T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI

BEYAZ HAŞHAŞ (*Papaver somniferum* L.) SULU METANOLİK ÖZÜTÜNÜN GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) *Aeromonas hydrophila* PATOJENİNE KARŞI TEDAVİ EDİCİ ETKİSİ İLE BAĞIŞIKLIK TEPKİSİ VE BÜYÜME PERFORMANSI ÜZERİNE ETKİLERİ

ABDULKARIM NASEEB JUWEEDAH SAEID ALQATANI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOÇ. DR. SONER BİLEN

EYLÜL - 2021
KASTAMONU

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

Abdulkarim Naseeb Juweedah Saeid ALQATANI

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BEYAZ HAŞHAŞ (*Papaver somniferum* L.) SULU METANOLİK ÖZÜTÜNÜN GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) *Aeromonas hydrophila* PATOJENİNE KARŞI TEDAVİ EDİCİ ETKİSİ İLE BAĞIŞIKLIK TEPKİSİ VE BÜYÜME PERFORMANSI ÜZERİNE ETKİLERİ

ABDULKARIM NASEEB JUWEEDAH SAEID ALQATANI

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI
DANIŞMAN:SONER BİLEN

Bu çalışmada, beyaz haşhaşın (*Papaver somniferum*) sulu methanolik özütü ile beslenen gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) bağışıklık tepkileri, büyüme performansı ve sindirim enzim aktivitelerindeki değişimler araştırılmış ve ayrıca *Aeromonas hydrophila*'ya karşı koruyucu aktivitesi belirlenmiştir. Bu amaçla balıklar %0 (Kontrol), %0,1 (B01), %0,5 (B0.5) ve %1 (B1) beyaz haşhaş methanolik özü içeren yemlerle 45 gün doyuncaya kadar beslenmiştir. Çalışmanın 15., 30. ve 45. günlerinde balıklardan kan ve doku (bağırsak ve ön böbrek) örnekleri alınmış ve bağışıklık yanıtlarındaki değişiklikler incelenmiştir. Çalışmanın sonunda balıklara intraperitoneal olarak *Aeromonas hydrophila* enjekte edilmiş ve 7 gün boyunca balıkların yaşama oranları kaydedilmiştir. Sonuçlar, kontrole kıyasla tüm deney gruplarında büyümenin önemli ölçüde arttığını göstermiştir ($P<0.05$). En yüksek büyüme B1 grubunda tespit edilmiştir ($P<0.05$). Sindirim enzimleri, lipaz dışında hiçbir örnekleme zamanında etkilenmemiştir. Lipaz, çalışma sonunda B1 grubunda diğer tüm gruplara göre artış göstermiştir ($P<0.05$). Oksidatif radikal üretimi ve potansiyel öldürme aktivitesi, yalnızca çalışmanın sonunda B1 gruplarında yükselmiştir ($P<0.05$). Lizozim, miyeloperoksidaz, toplam protein, İmmünoglobulin-M, kontrole kıyasla tüm örnekleme zamanlarında tüm deney gruplarında önemli ölçüde artmıştır. Çalışmanın sonunda tüm deney gruplarında anti-proteaz aktivitesi yükdelmiştir. Ön böbrekte B ile beslenen balıklarda IL-1β, TNF-α, TGF-β, IFN-1 ve IL-12'nin transkripsiyon seviyeleri önemli ölçüde artmıştır. Bağırsakta yükselmiş sitokin tepkileri sadece TGF-β, IFN-1 ve IL-12'de tespit edilmiştir. Hayatta kalma oranı sonuçlarına göre, deney gruplarının kontrol grubuna, özellikle B1 grubunda daha yüksek bir hayatta kalma oranına sahip olduğu gözlenmiştir ($P<0.05$). Tüm bu sonuçlar, beyaz haşhaş methanolik özütünün gökkuşağı alabalığı için bağışıklık uyarıcı olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

ANAHTAR KELİMELER: Beyaz haşhaş, gökkuşağı alabalığı, bağışıklık yanıt, sindirim enzimleri

Eylül 2021, 63 Sayfa

ABSTRACT

MSC THESIS

OPIUM POPPY (*Papaver somniferum* L.) AQUEOUS METHANOLIC EXTRACT IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*) AGAINST *Aeromonas hydrophila* PATHOGEN WITH IMMUNITY REACTION AND PERFORMANCE ON GROWTH

ABDULKARIM NASEEB JUWEEDAH SAEID ALQATANI

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF AQUACULTURE
SUPERVISOR:SONER BİLEN

In this study, changes in immune responses, growth performance and digestive enzyme activities of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with aqueous methanolic extract of white poppy (*Papaver somniferum*) were investigated, and also its protective activity against *Aeromonas hydrophila* was determined. For this purpose, fish were fed ad-libitum for 45 days with feeds containing 0% (Control), 0.1% (B01), 0.5% (B0.5) and 1% (B1) white poppy methanolic extract. Blood and tissue (intestine and anterior kidney) samples were taken from the fish every 15^{th}, 30^{th} and 45^{th} days of the study, and changes in immune responses were examined. At the end of the study, the fish were injected intraperitoneally with *Aeromonas hydrophila* and the survival rates of the fish were recorded during 7 days. The results showed that growth was significantly increased in all experimental groups compared to control ($P<0.05$). The highest growth was determined on B1 group ($P<0.05$). Digestive enzymes were not affected in any sampling time except lipase. Lipase was increased at the end of the study on B1 group compared to all other groups ($P<0.05$). Oxidative radical production and potential killing activity as elevated on B1 groups only at the end of the study ($P<0.05$). Lysozyme, myeloperoxidase, total protein, Immunoglobulin-M, was significantly increased in all experimental groups at all sampling time compared to control. Anti-protease activity was increased on all experimental groups at the end of the study. The transcription levels of interleukin-1β, TNF-α, TGF-β, IFN-1, and IL-12 were significantly up-regulated in the fish fed with B in head kidney. Elevated cytokine responses in the intestine were determined only TGF-β, IFN-1, and IL-12. According to the survival rate results, it was determined that the experimental groups had a higher survival rate than the control group, especially the B1 group ($P<0.05$). All these results suggest that white poppy methanolic extract could be used as immunostimulant for rainbow trout.

KEYWORDS: White poppy, rainbow trout, immune response, digestive enzymes

September 2021, 63 Page

TEŞEKKÜR

Tez çalışması boyunca yardımlarını esirgemeyen danışmanım Doç. Dr. Soner BİLEN'e, saha ve laboratuvar çalışmalarındaki katkılarından dolayı özellikle Arş. Gör. Osman Nezih KENANOĞLU 'na ve son olarak da bu süreçte manevi desteğini hiç eksik etmeyen sevgili aileme teşekkürü borç bilirim.

Abdulkarim Naseeb Juweedah Saeid ALQATANI

Kastamonu, 2021

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI ..... **ii**
TAAHHÜTNAME ..... **iii**
ÖZET ..... **iv**
ABSTRACT ..... **v**
TEŞEKKÜR ..... **vi**
İÇİNDEKİLER ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **x**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **xi**
1. GİRİŞ **1**
1.1 Gökkuşağı Alabalığının (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1972) Biyolojik Özellikleri ve Yetiştiricilik Koşulları 2
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR **4**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **28**
3.1 Materyal 28
3.1.1 Balık Materyali 28
3.1.2 Deneme Yeri, Deney Sistemi 28
3.2 Yöntem 28
3.2.1 Beyaz Haşhaş Sulu Metanolik Ekstraktının Çıkarılması 28
3.2.2 Kan ve Doku Örneklemelerinin Yapılması 29
3.2.3 Bağışıklık Yanıtların Belirlenmesi 29
3.2.3.1 Oksidatif radikal üretimi (ORÜ) 29
3.2.3.2 Lizozim aktivitesi 29
3.2.3.3 Myeloperoksidaz aktivitesi 30
3.2.3.4 Gen ekspresyonu 30
3.2.3.5 Total RNA izolasyonu 30
3.2.3.6 Komplementer DNA (cDNA) sentezi 31
3.2.3.7 Kantitatif gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) analizi 31
3.2.4 Büyüme Performansı 32
3.2.5 Sindirim Enzimi 32
3.2.5.1 Amilaz 32
3.2.5.2 Tripsin 33
3.2.5.3 Pepsin 33
3.2.5.4 Lipaz 33
3.2.6 Kontrol Testi 34
3.2.7 İstatistiksel Analizler 34
4. BULGULAR **35**
4.1 Büyüme Performansı 35
4.2 Sindirim Enzimleri 36
4.3 İmmünolojik Değişimler 36
4.3.1 Humoral Yanıtlar 36
4.3.1.1 Oksidatif radikal üretimi 36
4.3.1.2 Potansiyel öldürme aktivitesi 37
4.3.1.3 Lizozim aktivitesi 37

4.3.1.4 Myeleperoksidaz aktivitesi 38
4.3.1.5 Total protein 38
4.3.1.6 İmmunoglobulin-M 39
4.3.1.7 Antiproteaz aktivitesi 39
4.3.2 Gen Sunumları 40
4.3.3 Yaşama Oranları 45
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 46
6. KAYNAKLAR 55
ÖZGEÇMİŞ 63

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 4.1 Beyaz Haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının böbrek dokularında IL-1β gen sunumlarında meydana gelen değişimler. 40
Şekil 4.2 Beyaz Haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının bağırsak dokularında IL-1β gen sunumlarında meydana gelen değişimler. 40
Şekil 4.3 Beyaz haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının böbrek dokularında TNF-α gen sunumlarında meydana gelen değişimler. 41
Şekil 4.4 Beyaz haşhaş *(Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının bağırsak dokularında TNF-α gen sunumlarında meydana gelen değişimler 42
Şekil 4.5 Beyaz haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının böbrek dokularında TGF-β gen sunumlarında meydana gelen değişimler 42
Şekil 4.6 Beyaz haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının bağırsak dokularında TGF-β gen sunumlarında meydana gelen değişimler. 43
Şekil 4.7 Beyaz haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının böbrek dokularında IFN-1 gen sunumlarında meydana gelen değişimler. 43
Şekil 4.8 Beyaz haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının bağırsak dokularında IFN-1 gen sunumlarında meydana gelen değişimler 44
Şekil 4.9 Beyaz haşhaş (*Papaver somniferum L.*) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının böbrek dokularında IL-12 gen sunumlarında meydana gelen değişimler 44
Şekil 4.10 Beyaz haşhaş (*Papaver somniferum L.*) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının bağırsak dokularında IL-12 gen sunumlarında meydana gelen değişimler. 45
Şekil 4.11.Gökkuşağı alabalıklarının *Aermonas hydrophila*'ya karşı yaşama oranları 45

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1 Türkiye'deki gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği miktarları (TÜİK,2019) 3
Tablo 2.1 Çalışmada Kullanılan Primerler 31
Tablo 4.1 Beyaz Haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının büyüme performansında meydana gelen değişimler 35
Tablo 4.2 Enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimler. 36
Tablo 4.3 Oksidatif radikal değişimlerinde meydana gelen değişimler (mg/ml).. 36
Tablo 4.4 Potansiyel öldürme aktivitesi (OD 640) 37
Tablo 4.5 Lizozim aktivitesi (U/ml) 37
Tablo 4.6 MPO aktivitesi (OD 540) 38
Tablo 4.7 Total protein (g/dl) 38
Tablo 4.8 IgM (g/dl) 39
Tablo 4.9 Anti-proteaz aktivitesi (%) 39

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	Yüzde
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
C	Santigrat
gr	gram
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
kg	Kilogram
l	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
^{o}	Derece
O_2	Oksijen
OH^-	Hidroksit
OH	Hidroksil
U	Unite
KOH	Potasyum hidroksit
DMSO	Dimetil sülfoksit

Kısaltmalar

cDNA	Complementary DNA
COX	Cyclooxygenase
Dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleikasit
FAO	Food and Agriculture Organization
IL	İnterleukin
LYS	Lysozyme
MHC	Major histocompatibility complex
MPO	Myeloperoxidase
ORÜ	Oksidatif Radikal Üretimi
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PÖA	Potansiyel Öldürme Aktivitesi
NBT	Nitro blue tetrazolium chloride
FBS	Fetal Bovine Serum
RNA	Ribonükleik asit
RT-PCR	Real Time Polymerase Chain Reaction
TGF	Transforming Growth Factor
TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu

1. GİRİŞ

Dünya genelinde su ürünleri yetiştiriciliği, balık ve kabuklu ürünlerin yoğun talep görmesi ile birlikte hızla artmaktadır (Olsen ve Hasan, 2012). Dünya okyanuslarından elde edilen balık verimi maksimum üretim seviyesine ulaşmıştır (Bud vd., 2009), bu da 1990–2010 döneminde yıllık ortalama %6 'lık büyüme ile su ürünleri yetiştiriciliğini hayvansal ürün endüstrisinde en hızlı büyüyen alanlardan biri haline getirmektedir (Bud vd., 2009) FAO 2012). Balıklar, kısmen veya tamamen ürün kaybına yol açabilecek çok sayıda hastalığa karşı hassastır (Bondad-Reantaso vd., 2005). Bulundukları ortam nedeniyle çok sayıda patojenik mikroorganizmaya maruz kalmasından dolayı, yüksek üreme yoğunluğu, zayıf hidrodinamik koşullar ve beslenme; balıklarda fizyolojik değişikliklere, strese ve bağışıklık sisteminin baskılanmasına ve enfeksiyonlara duyarlılığının artmasına neden olmaktadır (Naylor vd., 2000). Özellikle balık transferi, aşılama veya çevre koşullarından meydana gelebilecek stres üretim ayağında güçlükler meydana getirebilmektedir (Cabello, 2006). Değişken dönemlerde balıkların karşı karşıya kalabileceği bu etmenler bakteriyel hastalıkların yaygın olarak görülmesine neden olabilmekte, sıhhi bariyerlerin olmaması, patojenik mikroorganizmaların yayılmasını kolaylaştırmakta ve yüksek ölüm oranlarına yol açmaktadır (Quesada vd., 2013).

Balık hastalıklarından kaynaklanan büyük ekonomik kayıpları önlemek için korunma ve tedavi amaçlı çeşitli ilaçlar kullanılmaktadır. Bunlar genellikle büyümeyi desteklemek için balık yemlerinde katkı maddesi olarak veya banyolama ya da enjeksiyon şeklinde kullanılmaktadır (Rico vd., 2013). Günümüzde birçok balık hastalık faktörünün tedavisi için hâlihazırda etkin, doğal ve ekonomik bir çözüm geliştirilememiş olması ve mevcut tedavi yöntemlerinin (aşılama, antibiyotik) ise balıklar için ekstra bir stres kaynağı olması, yapılan çalışmaları balık hastalıklarına karşı bağışıklık uyarıcıların kullanımını araştırma ve geliştirmeye yönlendirmiştir. Antibakteriyel ilaçların kullanımı mikrobiyal patojenlerde direnç oluşmasına ve balık dokularında kalıntı birikmesine neden olabilir (Dorucu vd., 2009). Aşılama ise, çeşitli balık hastalıklarının oluşmasını önleyebilmesine karşın; hücre içi patojenlerin çoğuna karşı aşıların geliştirilmesi henüz çok başarılı değildir (Fazlolahzadeh vd., 2011). Son

birkaç yıldır antibiyotiklerin yerini alabilecek alternatifler araştırılmakta ve şifalı bitkiler ile ilgili bu yönde araştırmalar yapılmaktadır. Şifalı bitkiler binlerce yıldır insanlarda hastalıkları tedavi etmek için kullanılsa da, balık hastalıklarına karşı etkilerine ilişkin çalışmalar nispeten azdır. Şifalı bitkiler sadece bir tedavi aracı olarak değil, aynı zamanda stres ve enfeksiyon hastalıklarının önlenmesi için büyüme destekleyicileri olarak da kullanılabilir (Ahilan vd., 2010). İçerdiği fenolik bileşikler ile antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antiparazitik etkisi olan tıbbi bitkiler bu içerikleriyle sentetik ürünlere önemli bir alternatiftir. Bununla birlikte balıklarda kalıntı sorununu ortadan kaldıran tıbbi bitkiler balık büyümesini de olumlu yönde etkilemektedir.

Bu çalışmada, beyaz haşhaş sulu metanolik özütünün alabalıklarda bağışıklık sistemine ve büyüme performansına etkileri incelenecek, ayrıca *Aeromonas hydrophila* patojenine karşı tedavi edici etkisi araştırılacaktır.

1.1 Gökkuşağı Alabalığının (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1972) Biyolojik Özellikleri ve Yetiştiricilik Koşulları

Avrupa'ya 1880 yılında ve Türkiye'ye 1967 yılında yetiştiriciliği yapılması amacıyla getirilmiş, Kuzey Amerika orjinli olan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) soğuk ve yüksek oranda çözünmüş oksijen içeren sularda yaşamakta olup, tüm dünyada yayılım göstermektedir.

Alem: Animalia (Hayvanlar)
Şube: Chordata (Kordalılar)
Sınıf: Actinopterygii (Işınsal yüzgeçliler)
Takım: Salmoniformes
Familya: Salmonidae (Somongiller)
Cins: Oncorhynchus
Tür: *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

Çevresel uygun olmayan koşullara adaptasyon sağlayabilen, adaptasyon özelliği yüksek gökkuşağı alabalıklarının kuluçka süresinin kısa olması, suni yöntemlerle yumurta elde edilebilmesi ve hastalık dirençlerinin yüksek olması sebebiyle

yetiştiricilikte tercih edilen bir tür olmasını sağlamıştır (Kanlı, 2004). Ülkemizde de gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği gelişen üretim teknolojisi ve hastalıkla mücadele ile birlikte yıllara göre giderek artmaktadır (Tablo 1.1).

Tablo 1.1 Türkiye'deki gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği miktarları (TÜİK,2019)

YIL	**ÜRETİM MİKTARI (ton)**
2008	154 907
2009	163 958
2010	174 220
2011	196 487
2012	215 644
2013	238 580
2014	239 945
2015	246 521
2016	258 038
2017	281 474

En belirgin özelliği dorsal ve lateral kısımlarında mevcut siyah benekleri olan *O. mykiss*'in, et rengi beslenme şekline bağlı olarak kırmızı veya beyaz renkte değişiklik gösterebilmektedir (Yanık, 2009). Optimum büyüme yaklaşık 18 °C 'de gerçekleşirken, 6-20 °C su sıcaklıklarında büyüme devam etmektedir. Çözünmüş oksijen 6 mg/l 'den daha yüksek ve pH 'nın ise 6-8,5 değerleri arasında olmasının uygun olacağı rapor edilmiştir (Pennell ve Barton, 1996).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Balık bağışıklık sistemi ilkel omurgalılar içerisinde gelişmiş bir yere sahiptir. Tıbbi bitkilerin farklı yöntemlerle elde edilen özütleri veya doğrudan elde edilen toz haldeki ürünleri ile balıklarda yapılan çalışmalar ve bu çalışmalara ait sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Bilen vd. (2020), yaptıkları çalışmada ebegümeci (*Malva sylvestris*) sulu methanolik özütünün gökkuşağı alabalıklarında bağışıklık yanıt ve büyüme performansı üzerine etkilerini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada gökkuşağı alabalıklarını 0 (kontrol); 0,1; 0,5 g/kg yem içeren yemlerle 30 gün boyunca beslemişlerdir. Çalışma sonunda 0,1 g/kg ebegümeci sulu methanolik özütü ile beslenen grupta balık büyüme performansının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Oksidatif radikal üretimi ve myeleperoksidaz aktivitesi 0,5 g/kg grubunda yüksek olarak tespit edilmiştir. Buna karşın deneme gruplarının lizozim ve fagozitik aktivitelerinde bir değişim gözlenmemiştir. Gen sunumlarında yaptıkları kontrolde ise IL-1β, TNF-α1, IL-8, IL-10, TGF-β ve IL-12 sitokinleri genellikle düştüğünü ya da değişmediğini tespit etmişlerdir. *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı yapılan kontrol testlerinde ise düşük dozlarda yüksek yaşama oranı tespit etmişlerdir. Ayrıca düşük dozlarla beslenen gökkuşağı alabalığının büyüme performanslarının da önemli derecede arttığını belirlemişleridir.

Bilen vd. (2020) yapmış oldukları çalışmada, gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*), melisa (*Melissa officinalis*) sulu methanolik özütü içeren yemlerle 75 boyunca beslemişler ve balıkların büyüme performansı, kan parametreleri, sindirim ve antioksidan enzim aktiviteleri ve spesifik olmayan bağışıklık tepkileri üzerine etkilerini belirlemişlerdir. Ortalama ağırlığı 23,03± 0,07 g olan balıklar, 0 (kontrol), 0,1; 0,5 ve 1 g/kg dozlarında melisa sulu methanolik özütü ile beslenmişlerdir. Çalışma sonunda ağırlık artışı ve spesifik büyüme oranının 0,5 ve 1 g/kg melisa özütü içeren yemlerle beslenen gruplarda önemli ölçüde arttığının tespit etmişlerdir. Yem dönüşüm oranı değerlerinde herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. 0,1 g/kg grubunda çalışmanın 45. gününde lökosit hücre sayısında artış tespit etmişlerdir. Kırmızı kan hücrelerinde

ise bir farklılık tespit edememişlerdir. Çalışmanın sonunda, lipaz aktivitesi kontrole kıyasla tüm deney gruplarında önemli ölçüde artmıştır. Pepsin aktivitesi, kontrol ile karşılaştırıldığında 0,5 ve 1 g/kg gruplarında yükselmiştir. Tripsin artışı 1 g/kg grubunda tespit edilmiştir. 1 g/kg grubunda çalışmanın sonunda süperoksit dismutaz aktivitesi arttığını tespit etmişlerdir. Katalaz aktivitesi farklılık göstermemiştir. Glutatyon redüktaz aktivitesi tüm deney gruplarında artmıştır. Glutatyon peroksidaz aktivitesi 0,5 ve 1 g/kg gruplarında önemli ölçüde yükselmiştir. Lipit peroksidasyonu ise gruplar arasında farklılık göstermemiştir. Oksidatif radikal üretimi ve lizozim aktivitesi, 1 g/kg grubunda önemli ölçüde yükselmiştir. Mevcut sonuçlar, melisa özütünün gökkuşağı alabalığında büyümeyi teşvik ettiğini ve antioksidan ve bağışıklık tepkilerini artırdığını belirlemişlerdir.

Elbesthi vd. (2020), yaptıkları çalışmada, sinirli otu (*Plantago lanceolata*) sulu methanolik özütü ile beslenen gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) kan parametrelerinde, bağışıklık tepkilerinde, antioksidan enzim aktivitelerinde ve büyüme performansında meydana gelen değişiklikleri incelemişlerdir. Balıklar (ortalama ağırlık 36,56±1,99 g), 0 (kontrol), 1, 2 ve 3 g/kg sinirli otu özütü ile 90 gün boyunca beslenmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre, ağırlık artışı ve spesifik büyüme hızı tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde artmıştır. Hemoglobin oranı sadece 1 g/kg grubunda çalışmanın 30. gününde artış göstermiştir. İmmün yanıt parametreleri değerlendirildiğinde, deney gruplarında oksidatif radikal üretimi ve lizozim aktivitelerinin olumlu yönde etkilendiğini gözlemlemiştir. En yüksek oksidatif radikal üretimi 3 g/kg grubunda belirlenmiştir. Glutatyon peroksidaz ve glukoz 6 fosfat dehidrogenaz aktivitesi 3 g/kg grubunda yükselmiştir. Bu sonuçlara dayanarak, sinirli otu özütünün gökkuşağı alabalığında büyümeyi teşvik ettiği, bağışıklık tepkilerini ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı ve bu nedenle su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

Christybapita vd. (2007), *Eclipta alba* yaprağı özütünün oral uygulamasının immünostimülatör etkilerini tilapia balıklarında (*Oreochromis mossambicus*) incelenmişlerdir. Bu amaçla balıklar 3 hafta boyunca 0; 0,01; 0,1 ve %1 oranlarında *E. alba* yaprağı sulu ekstresi içeren yemlerle beslenmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre, yem takviyesi olarak uygulanan *E. alba* sulu özütünün spesifik olmayan

bağışıklık parametrelerinin çoğunu önemli ölçüde arttırdığını tespit etmişlerdir. Humoral yanıtlardan lizozim aktivitesin her örnekleme döneminde arttığını belirlemişlerdir. Hücresel yanıtlarda ise gruplar arasında farklılık tespit edilmemiştir. Çalışma sonunda *A. hydrophila* ile yapılan kontrol testlerinde ise deneme gruplarının yaşama oranı önemli ölçüde artmıştır. En yüksek yaşama oranı %1 'lik grupta tespit edilmiştir. Sonuç olarak *E. alba* sulu yaprak özütü ile beslenen tilapia balıklarının bağışıklık yanıtlarının arttığını ve *A. hydrophila* 'ya karşı yaşama oranlarının yükseldiğini tespit etmişlerdir.

Bilen vd. (2019), yapmış oldukları çalışmada sakal likeni (*Usnea barbata*) sulu methanolik özütünün gökkuşağı alabalığında (*Onchorhynchus mykiss*) *Lactococcus garvieae* enfeksiyonuna karşı terapötik etkilerini ve bağışıklık parametreleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Altı farklı deney grubu (0 mg/100µL (Kontrol), 4 mg/100µL, 8 mg/100µL, 12 mg/100µL, 6 mg/100µL florfenikol (pozitif kontrol), 6 mg/100µL eritromisin (pozitif kontrol)), liken özütü etkilerinin belirlenmesi için gökkuşağı alabalıklarına oral olarak verilmiştir. Çalışmada, 12 mg sakal liken özütü, florfenikol ve eritromisin uygulanan balıklarda süperoksit radikal üretimi artmıştır. Lizozim aktivitesi genel olarak tüm gruplarda azalmıştır. Myeleperoksidaz, antibiyotik uygulanan gruplarda önemli ölçüde yükselmiştir. Sitokin gen ekspresyonları, 10. gün örnekleme döneminde IL-1β ekspresyonu dışında, kontrol grubuna kıyasla tüm deney gruplarında yükselmiştir. Tüm deneme gruplarında IL-8, TGF-β, IL-12, TNF-α, IL-10, COX-2, IL-6, TLR5, C3, IGM, MHC-II, iNOS, IgT, IFN1, IFN2, IFN reg gen sunumları kontrol grubuna kıyasla yükselmiştir. 4 mg sakal likeni ile tedavi edilen grupta, 8 mg sakal likeni ile tedavi edilen grupta ve eritromisin ile tedavi edilen grupta elde edilen sağ kalım oranları sırasıyla %73,08; %65,38 ve %80,77 olarak tespit edilmiştir.

Terzi vd. (2021), gökkuşağı alabalıklarını (*Oncorhynchus mykiss*) üryani eriği (*Prunus domestica*) sulu methanolik özütü içeren yemlerle 21 gün boyunca beslemişler; bağışıklık yanıt, büyüme performansı ve *Yersinia ruckeri* enfeksiyonuna karşı yaşama oranlarını belirlemişlerdir. Çalışmada büyüme performansında gruplar arasında bir farklılık tespit edilmemiştir. Bununla birlikte yem değerlendirme oranı %1 özüt içeren yemlerle beslenen gruplarda düşmüştür. Oksidatif radikal salınımları çalışmanın 7.

gününde %1 ’lik grupta yükselmiştir. Lizozim aktivitesinde hiçbir farklılık gözlenmemiştir. Myeleperoksidaz aktivitesi çalışmanın 14. günüde deneme gruplarında artış göstermiştir. Gen sunumlarına IL-1β ve COX-2 yükselmiştir. Tüm gruplarda *Y. ruckeri* 'ye karşı artan bir hayatta kalma oranı tespit edilmiştir.

Almabrok vd. (2018) sazan balıklarını ıhlamur sulu methanolik özütü içeren yemlerle %0 (kontrol); %0,01; %0,05 veya %0,1'lik bir dozda 45 gün boyunca beslemişler ve balıkların büyüme performansı ve bağışıklık yanıtları üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çalışmanın sonunda, ağırlık artışı ve spesifik büyüme hızının, kontrol grubuna kıyasla %0,01 ve %0,1 gruplarında önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir. Yem dönüşüm oranı, kontrol grubuna kıyasla %0,05 ve %0,1 gruplarında önemli ölçüde azalmıştır. Amilaz, lipaz ve tripsin aktivitelerinde gruplar arasında bir farklılık tespit edilemediği belirtilmiştir. Lizozim aktivitesi %0,05 ve %0,1 gruplarında artmıştır. Oksidatif radikal üretimi sırasıyla %0,1 ve %0,05 grupları için 15. ve 30. günlerde önemli ölçüde yükselmiştir. Dört grup arasında myeleperoksidaz aktivitesi için hiçbir farklılık gözlenmemiştir. Bu sonuçlara göre, *T. tomentosa*'nın sulu methanolik özütünü sazan balıkları üzerinde büyümeyi teşvik edici ve immün sistemi uyarıcı bir etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Mohamed vd. (2018), yapmış oldukları çalışmada *Apium graveolens* sulu methanolik özütünü yemlere katarak yavru sazanların (*Cyprinus carpio*) büyüme performansı, sindirim enzim aktiviteleri ve bağışıklık tepkisi üzerindeki etkisi incelemişlerdir. Bu amaçla, deneyin başlangıcında ortalama ağırlığı 6,5±0,07 g olan sazan balıkları, %0 (kontrol); %0,1; %0,5 ve %1'lik bir dozda kereviz sulu methanolik özü ile 45 gün boyunca beslenmişlerdir. Çalışmanın her 15. gününde bir olmak üzere örnekleme yapmışlar ve oksidatif radikal salınımı, lizozim ve myeleperoksidaz aktivitesi belirlenmiş, çalışma sonunda hematolojik yanıtlar ve büyüme performansı ve sindirim enzim aktivitesi tespit edilmiştir. Oksidatif radikal salınımları ve myeleperoksidaz aktivitesi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında uygulama yapılan tüm gruplarda önemli ölçüde artmıştır. Çalışmanın sonunda, ağırlık artışı ve spesifik büyüme hızı %0,1 grubunda diğer gruplara göre önemli ölçüde artmıştır. Yem değerlendirme oranı, kontrol ile karşılaştırıldığında %0,1 ve %1 gruplarında azalmıştır. Hematolojik parametreler *A. graveolens* özütü uygulaması ile değişmiştir. Lökosit ve eritrosit

sayımı, hemoglobin içeriği ve hematokrit değeri %0,1 özütü grubunda artmıştır. Tüm deney gruplarında sindirim enzimi aktivitesi (tripsin, amilaz ve lipaz), kontrol ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde yükselmiştir.

Bilen vd. (2021) gökkuşağı alabalıklarını, yüksek ardıç (*Juniperus excelsa*) sulu methanolik özütünü 0 (Kontrol), 1, 4 ve 8 mg/kg/balık dozu ile oral olarak 14 gün boyunca uygulamışlardır. Çalışma sonunda balıkların bağışıklık yanıtları ve gen sunumlarında meydana gelen değişimler tespit edilmiş ve balıklar *Y. ruckeri* enfeksiyonu ile çalışma sonunda kontrol testlerine tabi tutulmuşlardır. İmmün yanıtlar 7. ve 14. günlerde belirlenmiştir. Çalışmanın 14. gününde tüm gruplardaki oksidatif radikal salımı yükselmiştir. Lizozim aktivitesi çalışmanın yedinci gününde 8 mg/kg/balık grubunda artmıştır. 14. günde, lizozim aktivitesi 1 ve 4 mg/kg/balık gruplarında yükselmiştir. Örnekleme sürelerinden bağımsız olarak tüm gruplarda myeleperoksidaz aktivitesi önemli ölçüde azalmıştır. IL-1β çalışmanın yedinci gününde tüm gruplarda artış göstermiştir. IL-8, çalışmanın 7. gününde 4 ve 8 mg/kg/balık gruplarında IL-12 gen ekspresyonu 8 mg/kg/balık grubunda ve 14. günde ise 4 mg/kg /balık grubunda artış göstermiştir. *Yersinia ruckeri* enfeksiyonu ile çalışma sonunda yapılan kontrol testinde ise en yüksek yaşama oranı 8 mg/kg/balık grubunda tespit edildiği belirtilmiştir.

Bilen vd. (2019) yaptıkları çalışmada, çipura (*Sparus aurata* (19,92±0,40g)) ve Avrupa levreklerinde (*Dicentrachus labrax* 18,66±0,86g), tetra (*Cotinus coggygria*) ve ebegümeci (*Malva sylvestris*) sulu methanolik ekstralarının büyüme performansı ve bağışıklık tepkisi üzerine etkileri incelemişlerdir. Bu maksatla balıklar 500 ve 1000 mg/kg tetra ve ebegümeci özütü içeren yemlere 60 gün boyunca beslenmişlerdir. Oksidatif radikal üretimi, fagozitik, lizozim, myeleperoksidaz aktivitesi ve potansiyel öldürme aktiviteleri çalışmanın 30. ve 60. günlerinde tespit edilmiştir. Çalışma sonunda balıklar *Vibrio anguillarum* enfeksiyonu ile kontrol testine tabi tutulmuşlardır. Çalışmada, her iki deney balığının da nihai ağırlığı, kontrole kıyasla ebegümeci gruplarında önemli ölçüde artmıştır. Levrek balığında yem değerlendirme oranında farklılık gözlenmezken çipuralarda ebegümeci uygulanan gruplarda yem değerlendirme oranında azalma kaydedilmiştir. Ayrıca, tüm örnekleme zamanlarında tüm tedavi gruplarında levreklerde oksidatif radikal üretimi önemli ölçüde artmıştır.

Çipurada kontrole göre 30. günde tetra 500 mg/kg ve ebegümeci 500 mg/kg gruplarında, 60. günde sadece ebegümeci gruplarında artış tespit edilmiştir. Fagozitik aktivite 30. günde sadece tetra özü verilen levreklerde ve 60. günde 1000 mg/kg grubu hariç tüm tedavi gruplarında önemli ölçüde artmıştır. Çipuralarda 30. günde tüm tedavi gruplarında ve 60. günde sadece 500 mg/kg ebegümeci 1000 mg/kg tetra gruplarında fagozitik aktivitede artış tespit edilmiştir. Lizozim aktivitesi, levreklerde ve çipuralarda tetra 500 mg/kg ve 1000 mg/kg gruplarında tüm örnekleme zamanlarında yükselmiştir. Myeleperoksidaz aktivitesi her iki balık türünde de kontrole kıyasla tüm örnekleme zamanlarında artmıştır. Her iki balık türünün kontrol testlerinde yaşama oranlarında kontrol grubuna kıyasla artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Bilen ve Elbeshti (2019) gökkuşağı alabalığında *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı tetra (*Cotinus coggygria*) sulu methanolik özütünün terapötik etkilerini araştırmışlardır. Dört farklı konsantrasyonda tetra özütü (0 [kontrol], 4, 8 ve 12 mg/100 µl) ve ayrıca iki farklı pozitif kontrol grubu (florfenikol ve doksisiklin antibiyotikleri) ile gökkuşağı alabalıklarına (*Oncorhynchus mykiss*) gavaj vasıtası ile oral yoldan uygulanmıştır. *A. hydrophila*'nın intraperitonal olarak verilmesinden sonra günde iki kez deney gruplarına ilgili özütler uygulanmıştır. Çalışma 10 gün sürmüştür. Çalışmada, süperoksit radikal üretimi 12 mg tetra ve florfenikol uygulamaları dışında genel olarak tüm deney gruplarında kontrole göre azalmıştır. Lizozim aktivitesi genel olarak düşüş göstermiştir. Florfenikol uygulanan balık grubunda 7. günde myeleperoksidaz aktivitesi önemli ölçüde artmıştır. Genel olarak myeleperoksidaz aktivitesi, tetra ile tedavi edilen hemen hemen tüm gruplarda bir artış göstermiştir. Hematolojik parametreler yükselmiştir. Hemen hemen tüm bağışıklıkla ilgili gen ifadeleri, çalışmanın 3. ve 10. gününde önemli ölçüde artmıştır. Kontrol grubunda hayatta kalma oranı %53,33 olarak bulunmuştur. Kontrol ve 4 mg tetra ile tedavi edilen gruplar arasında hayatta kalma açısından farklılık oluşmamıştır. Diğer tüm grupların hayatta kalma oranları, kontrole kıyasla önemli ölçüde artmıştır. En yüksek yaşama oranı florfenikol grubunda (%80) tespit edilmiştir. 12 mg tetra, doksisiklin ve 8 mg tetra ile tedavi edilen gruplarda sağkalım oranı sırasıyla %74,44; %70 ve %70 olarak kaydedilmiştir.

Bilen vd. (2014), japon balıklarını ısırgan otu sulu methanolik özütü ile beslemişler ve büyüme performansı ve bağışıklık yanıtlar üzerinde meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Bu maksatla balıklar 0,1 ve 0,5 g/kg özüt içeren yemlerle 30 gün boyunca beslemişlerdir. Çalışmanın sonunda, süperoksit anyon üretimi, lizozim, myeleperoksidaz ve fagozitik aktivite kullanılarak ısırgan otunun immünomodülatör özelliklerini değerlendirilmiştir. Çalışmada, tüm bağışıklık parametreleri, kontrole kıyasla ısırgan özütü alımından olumlu yönde etkilenmiştir. Spesifik olmayan bağışıklık tepkilerinin en yüksek seviyesi 0,5 g/kg ısırgan otu grubunda tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, ısırgan otu özütünün japon balıkları için etkili bir non-spesifik immunostimulant olduğu tespit etmişlerdir.

Amhamed vd. (2018), çalışmalarında *Chenopodium album* sulu methanolik özütü takviyesinin, sazan balığının (*Cyprinus carpio*) immünolojik ve hematolojik indeksleri, sindirim enzim aktivitesi ve büyüme performansı üzerindeki etkinliğini araştırmışlardır. *C. album* bazal diyete 0; 0,1; 0,5 ve 1 g/kg oranında eklenmiş ve sazanlar bu yemlerle 45 gün boyunca beslenmişlerdir. Süperoksit anyon üretimi, 15. ve 30. günlerde tüm deney gruplarında önemli ölçüde artmıştır. Lizozim aktivitesi, 1g/kg grubu dışında tüm örnekleme sürelerinde ve gruplarında önemli ölçüde artmıştır. Myeleperoksidaz aktiviteleri, kontrole kıyasla tüm deney gruplarında önemli ölçüde yükselmiştir. Hematolojik parametreler kontrole kıyasla önemli ölçüde azalmıştır. Kontrole kıyasla 0,5 ve 1 g/kg gruplarında tripsin ve lipaz aktiviteleri önemli ölçüde yükselmiştir. Amilaz aktivitesi, kontrole kıyasla tüm deney gruplarında önemli ölçüde yükselmiştir. Son ağırlık, ağırlık artışı ve SGR, kontrole kıyasla 0,1 ve 1 g/kg gruplarında önemli ölçüde artmıştır. FCR, deney grupları arasında farklılık göstermemiştir. Bu sonuçlar, sulu methanolik özütü ile diyet takviyesinin, *C. Carpio* 'nun bağışıklık tepkileri, sindirim enzimi aktivitesi ve büyüme performansı üzerinde faydalı etkileri olduğunu göstermiştir.

Bilen vd. (2014), çalışmalarında koi sazanlarında (*Cyprinus carpio*) tetra (*Cotinus coggygria*) özütünün diyet takviyesinin non-spesifik immun yanıt ve *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı koruyucu etkilerini test etmişlerdir. Bu maksatla balıklar 30 gün boyunca 0 (Kontrol), 0,5 (Te1), 1 (Te2) ve 1,5 g/kg (Te3) tetra özütü içeren yemlerle beslenmiştir. Hematolojik parametreler, çalışmanın sonunda tedaviler

arasında değerlerde farklılık göstermemiştir. Bununla birlikte, Te2 grubunda kırmızı kan hücresi sayıları önemli ölçüde artmıştır. Süperoksit radikal salınımı tüm tedavi gruplarında kontrole göre daha yüksek bulunmuş, sırasıyla Te3, Te1 ve Te2 gruplarında daha yüksek değerler kaydedilmiştir. Tedavi gruplarının lizozim ve myeleperoksidaz aktivitesi, kontrole kıyasla önemli ölçüde artmıştır. 30 günlük beslenmeden sonra *A. hydrophila* ile yapılan kontrol testlerinde Te3, Te2, Te1 sırasıyla %13,3; 20 ve 26,7 mortalite göstermiştir. Tetra özütü takviyeli diyetler, immünolojik tepkileri arttırmış ve *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı yaşama oranını arttırmıştır.

Bilen vd. (2021), çalışmalarında defne yaprağı (*Cistus laurifolius*) etanolik özütünün sazan balıklarında (*Cyprinus carpio*) büyüme performansı, sindirim enzim aktivitesi, hematolojik profil ve spesifik olmayan bağışıklık tepkileri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Ayrıca *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı kontrol testlerini de yapmışlardır. Bu maksatla balıklar ilgili özüt ile 45 gün boyunca 0 (Kontrol), 0,1 (CL0,1), 0,5 (CL0,5) ve 1 (CL1) g/kg dozlarında beslenmişlerdir. 30. günde CL0,1 ve CL0,5 balık gruplarında süperoksit anyon üretimi (SAP) artmış ve çalışma sonunda tüm deneysel balık grupları kontrole kıyasla daha yüksek SAP gözlenmiştir. Lizozim aktivitesi (LA), CL0,5 ve CL1 ile tedavi edilen gruplarda 30. günde yükselmiştir ve bu artış kontrol ile karşılaştırıldığında sadece çalışmanın sonunda C0,1 grubunda gözlenmiştir. Çalışmanın sonunda CL0,5 ve CL1 balık gruplarında myeleperoksidaz aktivitesi önemli ölçüde artmıştır. IL-1β gen ekspresyonu, doza bağlı bir şekilde önemli ölçüde yükselmiştir. IL-6 ve IL-8'in transkripsiyonu için benzer sonuçlar gözlenmiştir. Anti-inflamatuar sitokinler, IL-10 ve TGF-β, CL ile tedavi edilen balık gruplarının bağırsaklarında ve böbreklerinde kontrole kıyasla yüksek oranda yükselmiştir. Deney sonunda, kontrole kıyasla CL 0,1 ile tedavi edilen balık grubunda önemli ölçüde daha yüksek ağırlık artışı ve spesifik büyüme oranı elde edilmiştir. Ancak CL 1 grubunda büyüme olumsuz etkilenmiştir. CL 1 grubu da önemli ölçüde daha yüksek bir yem dönüşüm oranı belirlenmiştir. Amilaz aktivitesi, kontrole kıyasla tüm deneysel balık gruplarında önemli ölçüde yükselmiştir. CL 0,1 ve CL 1 balık gruplarında tripsin aktivitesi azalmıştır. Beyaz ve kırmızı kan hücreleri CL 0,5 ve CL 1 balık gruplarında önemli ölçüde artarken, hemoglobin, hematokrit, ortalama hücre, ortalama hücre hemoglobin içerikleri kontrol ve tedavi grupları arasında farklılık tespit edilememiştir. *A. hydrophila* ile yapılan kontrol testinin sonucunda, tüm tedavi

gruplarında hayatta kalma oranının kontrol grubundan önemli ölçüde yüksek olduğunu göstermiştir.

Salem vd. (2021), yaptıkları çalışmada karahindiba (*Taraxacum officinalis*) ve liken (*Usnea barbata*) özütleri ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yavrularının antioksidan aktiviteleri, bağışıklık tepkileri ve büyüme performansları üzerine etkilerini incelemişlerdir. Bu maksatla balıklar bitki özütlerinin 4 farklı konsantrasyonu ile (%0 (kontrol); %0,1; %0,5 ve %1 (D, karahindiba; L, liken) yemlere karıştırmışlar, balıklar bu yemlerle 75 gün boyunca beslemişlerdir. Çalışmanın 15., 45. ve 75. günlerde karaciğer antioksidan enzim aktiviteleri belirlenmiş ve her 15 günde bir bağışıklık yanıtları tespit etmişlerdir. Sonuçlar, 15. ve 45. günde balık grubunda süperoksit dismutaz aktivitesinin %0,1 D balık grubunda arttığını göstermiştir. Ancak, %0,1 L grubunda 15. gün hariç, hemen hemen tüm örnekleme zamanlarında liken özütü ile tedavi edilen tüm gruplarda kontrolden daha düşük olarak tespit edilmiştir. %0,5 L ve %1 L uygulanan balık gruplarında 15. günde, %1 D ve %1 L gruplarında 45. günde ve %0,1 D grubunda 75. günde glutatyon peroksidaz aktivitesi 15. günde artış göstermiştir. %0,1 D grubu, %1 D ve %1 L gruplarında 45. günde ve %0,5 D, %0,1 D ve %0,5 L gruplarında balıklarda 75. günde gözleniştir. %0,1 L ve %0,5 L grupları hariç, 15. günde kontrole kıyasla tüm tedavi gruplarında düşmüştür. Çalışmanın 75. gününde %0,5 D, %1 D ve %0,5 L balık gruplarında yüksek G6PDH aktivitesi de gözlenmiştir. Çalışmanın 45. gününde tüm L gruplarında lipit peroksidasyonunda (LP) artış gözlenmiştir. Lizozim aktivitesinin kontrole göre 45. günde %0,5 ve %1 L'de, 60. günde %0,1 L'de ve 75. günde %0,5 L balık grubunda en yüksek olduğu belirlenmiştir. Myeleperoksidaz, kontrol grubuna göre %1 L balık grubunda çalışma sonunda en yüksek olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak, oksidatif stresle mücadele etmek ve yem dönüşüm oranını düşürmek için karahindiba kullanımını ve gökkuşağı alabalığında bağışıklık tepkisini modüle etmek için liken kullanımını önermişlerdir.

Bilen vd. (2018), çalışmalarında dereotu (*Anethum graveolens*) ve tere (*Lepidium sativum*) özütü ile beslenen sazanların (*Cyprinus carpio*) büyüme performansı, sindirim enzim aktiviteleri ve bağışıklık tepkileri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Ayrıca, *Aeromonas hydrophila* ve *Edwardsiella tarda*'ya karşı hastalık dirençlerini

tespit etmişlerdir. Sazan, 45 gün boyunca iki farklı dozda bitki özütü (1 ve 2 g/kg) ile dört tedavi grubunda: dereotu 1g/kg (D1) ve 2g/kg (D2) ve1g/kg (G1) ve 2g/kg (G2) tere ile beslenmiştir. Sonuçlar, son balık ağırlığının ve spesifik büyüme oranlarının G2 grubunda kontrol grubuna (C) ve diğer deney gruplarına (D1, D2 ve G1) göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, D1 grubu hariç, deney gruplarında yem dönüşüm oranında herhangi bir farklılık tespit edilememiştir. D1 grubunda FCR önemli ölçüde artmıştır. G2 grubunda tripsin aktivitesi önemli ölçüde azalmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, amilaz aktivitesi D2 grubunda en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Gruplar arasında lipaz aktivitelerinde fark tespit edilememiştir. Lizozim aktivitesi, kontrol grubuna kıyasla D1 ve G2 gruplarında çalışmanın 15. gününde önemli ölçüde artmıştır ($P<0,05$). 30. günde, kontrol grubuna kıyasla D2 grubunda lizozim aktivitesi yükselmiştir. 45. günde gruplar arasında lizozim aktivitesinde herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Myeleperoksidaz (MPO) aktivitesi G2 grubunda 15. günde artmıştır. En yüksek MPO aktivitesi çalışmanın 30. gününde D1 grubunda tespit edilmiştir. Çalışmanın tüm örnekleme zamanında, süperoksit anyon üretimi, kontrol grubuna kıyasla tüm deney gruplarında yükselmiştir. Ayrıca, *A. hydrophila* ile yapılan kontrol testlerinde, G1, G2 ve D1 gruplarındaki sazanların hayatta kalma oranları önemli ölçüde artmıştır. *E. tarda* ile yapılan kontrol testlerinde ise G2 ve D1 gruplarındaki sazanların hayatta kalma oranları daha yüksek olmuştur. Çalışmanın sonuçları, terenin sazan balığı üzerinde bağışıklık sistemini uyarıcı etkileri olduğunu ve balıkların büyüme hızını artırdığını gös Bilen vd., (2020), yaptıkları çalışmada, gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) melisa (*Melissa officinalis*) sulu methanolik özütünün büyüme performansı, kan parametreleri, sindirim ve antioksidan enzim aktiviteleri ve spesifik olmayan bağışıklık tepkileri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Ortalama ağırlığı 23,03± 0,07 g olan balıklar, 0 (kontrol); 0,1 (LB0,1); 0,5 (LB0,5) ve 1 g/kg (LB1) dozlarında melisa sulu methanolik özütü içeren yemlerle 75 gün boyunca beslenmişlerdir. Son ağırlık, ağırlık artışı ve spesifik büyüme hızının, kontrol grubuna kıyasla LB0,5 ve LB1 gruplarında önemli ölçüde arttığı gözlemlenmiştir. Yem dönüşüm oranı değerlerinde herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. LB 0,1 grubunda çalışmanın 45. gününde beyaz kan hücresi artmıştır. Kırmızı kan hücrelerinde bir farklılık tespit edilememiştir. Çalışmanın sonunda, lipaz, kontrole kıyasla tüm deney gruplarında önemli ölçüde artmıştır. Pepsin, kontrol ile karşılaştırıldığında LB0,5 ve LB1 gruplarında yükselmiştir. LB1 grubunda tripsin

artışı tespit edilmiştir. LB1 grubunda çalışmanın sonunda SOD aktivitesi artmıştır. Katalaz değerlerinin kontrol ile karşılaştırıldığında bir farklılık tespit edilememiştir. Glutatyon redüktaz aktivitesi, kontrole kıyasla tüm deney gruplarında artmıştır. Glutatyon peroksidaz, LB0,5 ve LB1 gruplarında önemli ölçüde yükselmiştir. Kontrol grubuna kıyasla LB1 grubunda lipit peroksidasyonu düşmüştür ancak bu azalma istatistiksel olarak farklılık göstermemiştir. Oksidatif radikal üretimi ve lizozim aktivitesi, LB1 grubunda önemli ölçüde artmıştır. En yüksek MPO kontrol grubunda belirlenmiştir.

Bilen vd. (2016), gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) kaparinin (*Capparis spinosa*) takviyesinin sitokin yanıtlar, spesifik olmayan bağışıklık aktivitesi ve büyümeyi destekleyici etkisini incelemişlerdir. Gökkuşağı alabalıkları 30 gün boyunca üç doz kapari metanolik özütü [0 (Kontrol), 0,1 ve 0,5 g kg^{-1} yem] içeren yemlerle beslenmiştir. Besleme denemesinin sonunda, böbrekte IL-1β, IL-8, TGF-β, IL-12p40, TNF-α1 ve IL-10 'u içeren sitokin genlerinin ekspresyon seviyeleri tespit edilmiş ve süperoksit anyon üretimi (SAP), fagozitik, lizozim ve myeleperoksidaz aktivitelerini belirlemek için kan serumları toplanmıştır. Çalışma sonunda 0,1 g/kg kapari özü ile beslenen balık grubunda TNF-α1 hariç tüm sitokinlerin ekspresyon seviyeleri diğer gruplara kıyasla yükselmiştir. 0,5 g/kg kapari özü ile muamele edilmiş balıklarda, kontrol grubu balıklarına kıyasla sadece IL-12p40 ve IL-10 genleri yükselmiştir. SAP, kapari özütü uygulanan her iki grupta kontrole göre artmış ve en yüksek seviye 0,1 g/kg grubunda gözlenmiştir. Kapari özü ile tedavi edilen grupların her ikisinde de fagozitik aktivite, gruplar arasında hiçbir fark göstermezken kontrole kıyasla artmıştır. Lizozim ve myeleperoksidaz aktivitelerinin 0,1 g/kg grubunda diğer gruplara göre en yüksek olduğu kaydedilmiştir. Kapari dozları artırıldığında büyüme artışı olumlu etkilenmiştir. *Aeromonas hydrophila* ile kontrol testlerinde kontrole kıyasla 0,1 ve 0,5 g/kg kapari özü ile muamele edilmiş balık gruplarında hayatta kalma oranı önemli ölçüde yükselmiştir. Bu sonuçlar, kapari özütünün sitokin tepkiler yoluyla doğal bağışıklığı uyardığını ve gökkuşağı alabalığında büyümeyi desteklediğini göstermektedir.

Bilen ve Bulut (2010), yaptıkları çalışmada, gökkuşağı alabalığı üzerine yemlere eklenen defne tozunun immunostimulant etkilerini araştırılmışlardır. Balıklar 14 gün

boyunca kontrol yemleri ile beslendikten sonra 3 grup gökkuşağı alabalığı 21 gün boyunca %0,5 ve %1 defne yaprağı tozu içeren deneysel diyetlerle beslenmiştir. Balıklar daha sonra kontrol diyetine geri döndürülmüş ve spesifik olmayan bağışıklık, 21 günlük deneysel besleme periyodu sonunda, 42. ve 63. günlerde tekrar tespit edilmiştir. Spesifik olmayan bağışıklık parametreleri, hücre dışı ve hücre içi radikal salınımları, kan lökositlerinde fagositoz, lizozim ve toplam plazma protein düzeyi değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucu, radikal salınımları, lizozim aktivitesi ve toplam plazma protein seviyeleri üzerinde hiçbir etki göstermemiştir. Sırasıyla %0,5 ve %1 defne ilaveli yemlerle beslenen balıklarda fagozitik aktivite diğer gruplara göre anlamlı olarak artmıştır. Bununla birlikte, defne dozajları arasında bir ilişki tespit edilememiştir.

Altunoğlu vd. (2017), Gökkuşağı alabalığındaki (*Oncorhynchus mykiss*) çörek otu (*Nigella sativa*) metanolik ekstraktının bağışıklık uyarıcı etkilerini değerlendirmişlerdir. Değişken konsantrasyonlarda çörek otu metanolik özütünü [0 (Kontrol), 0,1 ve 0,5 g kg^{-1} yem] bazal diyete ayrı ayrı eklemişler ve doğal bağışıklık tepkilerini, büyüme performansını değerlendirmek için gökkuşağı alabalıklarını 30 gün boyunca beslemişlerdir. 0,5 g kg^{-1} çörek otu ekstresi ile beslenen grupta yemden yararlanma oranının önemli ölçüde azaldığını ayrıca; 0,5 g kg^{-1} çörek otu ekstresi ile beslenen grupta solunum patlama aktivitesinin en yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Lizozim ve miyeloperoksidaz aktiviteleri, kontrol grubuna kıyasla deney gruplarının balıklarında önemli ölçüde arttığını, çörek otu 0,5 g kg^{-1} uygulanan grupta TGF-β gen ekspresyonunun arttığını ve 0,1 g kg^{-1} uygulanan gruplarda IL-1β ve TGF-β gen ekspresyonlarının azaldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca IL-12 geninin ekspresyonunun her iki deney grubunda da azaldığını, *Aeromonas hydrophila* ile kontamine edildikten sonra çörek otu özü ile muamele edilmiş balık grupları ile kontrol arasında hayatta kalma oranlarında önemli bir fark olmadığını belirtmişlerdir. Sonuçlar, çörek otu metanolik özütünün bazı doğuştan gelen humoral bağışıklık tepkilerinin bir uyarıcısı olduğunu, ancak gökkuşağı alabalıklarında sitokinle ilişkili gen transkripsiyonları için etkisiz olduğunu göstermektedir.

Bilen vd. (2016), bu çalışmada istiridye mantarı (*Pleurotus ostreatus*) ve ısırgan otunun (*Urtica dioica*) metanolik ekstraktlarının gökkuşağı alabalığında

(*Oncorhynchus mykiss*) *Aeromonas hydrophila*'ya karşı bağışıklık uyarıcı etkileri ve hastalık direncini araştırmışlardır. Üç farklı konsantrasyonda ekstrakt [0 (Kontrol), 0,1 ve 0,5 g/kg^{-1} yem] bazal diyetle ayrı ayrı karıştırılmış ve 30 günlük bir süre boyunca gökkuşağı alabalığına (10,28±0,1 g) yem vermişlerdir. 30 günlük besleme denemesinden sonra, gökkuşağı alabalığı bakteriyel patojen *A. hydrophila* ile kontamine etmişlerdir. Sonuçlar, tedavi edilen gruplar arasında hiçbir fark olmaksızın kontrol grubuna kıyasla tedavi edilen tüm gruplarda nihai balık ağırlığının ve spesifik büyüme oranının daha yüksek olduğu yönünde rapor edilmiştir. Hem istiridye mantarı hem de ısırgan otu ekstraktı uygulanan gruplarda yemden yararlanma oranının kontrole göre daha düşük olduğu ve en düşük seviyenin 0,1 g kg^{-1} istiridye mantarı grubunda olduğunu belirtilmişlerdir. Ölçülen tüm bağışıklık parametrelerinin, istiridye mantarı ve ısırgan otu ekstraktının diyet alımından etkilenmiş olduğu da rapor edilmiştir. Bilen vd., (2016), nitroblue tetrazolium (NBT) aktivitesinin, kontrole kıyasla tedavi edilen tüm gruplarda daha yüksek olduğu, fagositik aktivitenin de tüm tedavi gruplarında arttığı, bununla birlikte, en yüksek fagositik aktivite seviyesinin, iki doz arasında fark olmaksızın ısırgan gruplarında gözlendiği tespit edilmiş ve raporlamıştır. Ayrıca, 0,1 ve 0,5 kg^{-1} ısırgan otu özütü ile muamele edilen gökkuşağı alabalıklarında, *A. hydrophila* ile kontamine edildiğinde en yüksek hayatta kalma oranına sahip olduğu. Kontrol ve istiridye mantarı grubu arasında hayatta kalma açısından ise herhangi bir farklılık sergilenmediği tespit edilmiştir (Bilen vd., 2016). Bu sonuçların, gökkuşağı alabalığında istiridye mantarı ve ısırgan otu ekstraktlarının immün sistemi uyarıcı ve antimikrobiyal etkilerini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, ısırgan otunun maliyet etkinliği, gökkuşağı alabalığı için bir bağışıklık uyarıcı olarak daha iyi kabul edilmiş, Bilen vd., (2011) araştırmalarında, tetra (*Cotinus coggyria*)'nın gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerinde diyetle alınan spesifik olmayan immün etkilerini araştırmaya sevk etmiştir. Balıklar, 3 hafta boyunca %0,5 ve %1 tetra içeren diyetlerle günlük beslenmiş, bu süreden sonra balıklar 6 hafta daha bazal diyete geri dönmüştür. Hücre dışı ve hücre içi solunum patlama aktiviteleri, kan lökositlerinde fagositoz, lizozim aktiviteleri ve toplam plazma protein seviyeleri, tetra besleme döneminin sonunda ve bazal diyet dönemi boyunca her 3 haftada bir değerlendirildiği çalışmada, %0,5 ve %1 tetra içeren grupların hücre dışı ve hücre içi solunum patlama aktiviteleri, fagositik aktivite, lizozim aktivitesi ve toplam protein seviyesi parametreleri sırasıyla 3., 6. ve 9. haftaların sonunda kontrol grubuna göre

daha yüksek olduğu sonucu rapor edilmiştir. Spesifik olmayan bağışıklık parametrelerinin en yüksek değerleri %1 tetra ile beslenen grupta gözlendiği çalışmada, tetra gruplarında, balıkların özgül büyüme hızı ve ortalama ağırlıklarının önemli bir farklılık göstermediği de belirtilmiştir (Bilen vd., 2011).

Rashidian vd. (2021), çalışmalarında, ultrason destekli *Origanum vulgare* ekstraktının büyüme, antioksidan ve bağışıklık tepkileri (serum ve mukozal) ve zebra balıklarında (*Danio rerio*) *Aeromonas hydrophila*'ya karşı direnç üzerindeki diyet etkilerini değerlendirmişlerdir. Rashidian vd., (2021) bu çalışmada dört yüz kırk yetişkin zebra balığı 12 tanka dağıtılmış olup, kg^{-1} diyet başına %0 (kontrol), %0,5 (M1), %1 (M2) ve %2 (M3) ekstrakt içeren 4 deneysel diyetle beslemişlerdir. Balıklara *A. hydrophila* bulaştırdıktan sonra 10 gün boyunca ölüm oranı kaydetmişlerdir. Rashidian vd. (2021) elde ettikleri sonuçlarda, ekstraktların ağırlık artışını ve spesifik büyüme hızını arttırdığı; büyüme parametreleri üzerinde güçlü etkiler gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Rashidian vd., (2021) yem dönüşüm oranlarında (YDO) ise, ekstrakt içeren diyetlerin önemli ölçüde daha YDO değerlerini düşürdüğü sonucuna varmışlardır. *O. vulgare* özü, *A. hydrophila* bulaşı sonucunda oksidatif strese karşı daha az hassasiyet ve daha yüksek bir hayatta kalma oranı sağladığı ve antioksidan ve bağışıklık tepkilerini geliştirdiği belirtilmiştir (Rashidian vd., 2021). Rashidian vd. (2021), genel olarak, en büyük etkiler, ekstraktın %1 diyete dahil edildiği bireylerde gözlenmiş olup bu doğrultuda, *Origanum vulgare* bitkisinden elde edilen ekstraktın su ürünleri endüstrisinde kullanım için büyük bir potansiyele sahip olduğunu ve zebra balığının beslenme çalışmaları için uygun bir model olduğu sonucuna varmışlardır.

Sun vd. (2018), Panax notoginseng özü (PNE) içeren altı rasyonla beslenen hibrit orfozda (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀) büyüme, plazma biyokimyasal parametreleri, balık bileşimi, bağışıklık parametreleri, bağırsak histolojisi ve bağışıklıkla ilgili genlerin ifadeleri incelemişlerdir. 0,5; 1; 2; 4 ve 10 g kg^{-1} 8 hafta sonra sonuçlar, diyet PNE 'sinin büyümeyi, yem verimlilik oranını, protein verimlilik oranını ve protein biriktirme oranını önemli ölçüde iyileştirdiğini ve tüm vücudun ham protein ve ham lipid seviyelerini ve kasın ham protein seviyesini önemli ölçüde artırdığını belirtmişlerdir. Söz konusu diyetin PNE, plazma toplam proteini, alkalin fosfataz, immünoglobulin, tamamlayıcı 3 ve tamamlayıcı 4 içeriğini önemli

ölçüde artırdığı, ancak kolesterol, trigliserit, glikoz ve düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol içeriğini önemli ölçüde azalttığı belirtilmiştir. Sun vd. (2018), ayrıca, PNE'nin ön bağırsak, orta bağırsak vd.,a bağırsakta villus uzunluğunu ve kas kalınlığını, hepatik süperoksit dismutaz aktivitelerini ve toplam antioksidan kapasitesini arttırdığını belirtmişler ve bağışıklıkla ilgili genlerin (IL-10, TGF-β1, TOR, MHC2 ve TLR3) ve 0,5-4 g/kg PNE ile beslenen balıklarda antioksidan genlerin (CAT ve GR) ekspresyon seviyeleri ile ilgili karşılaştırmalar yapmışlardır. Sonuç olarak, 0,5–10 g/kg 'de PNE ile desteklenmiş yüksek lipitli orfoz diyetleri, baş böbrekte büyümeyi, yem kullanımını, kan immün parametrelerini, hepatik antioksidan durumunu, bağırsak morfolojisini ve immün ilişkili genlerin ekspresyon seviyelerini arttırdığı sonucuna varmışlardır.

Kirubakaran vd. (2016), tıbbi bitki özlerini kullanarak sağlanan immünostimülasyonun, sürdürülebilir balık yetiştiriciliğine etkisine değinerek, bu yaklaşımların hastalıkların önlenmesi ve kontrolü için umut verici bir yaklaşım olduğunu belirtmişlerdir. *Oreochromis mossambicus*, dünya çapında kültürü yapılan bir balıktır ve laboratuvar çalışmalarında model bir organizmadır. *Aeromonas hydrophila*, su ürünleri yetiştiriciliği endüstrilerinde büyük kayıplara neden olan balık yetiştiriciliğindeki başlıca bakteriyel patojenlerden biri olup Kirubakaran vd., (2016) çalışmalarında, *Nyctanthes arbortristis* tohumlarının metanol ekstraktının *O. mossambicus* 'un canlı virülent *A. hydrophila* 'ya karşı hastalık direnci üzerindeki etkinliğini araştırmışlardır. Ayrıca serum lizozim, miyeloperoksidaz, antiproteaz gibi spesifik olmayan immün parametreler üzerindeki etkisini ve bakteriyel aglütinasyon testi ile tayin edilen spesifik serum antikor titreleri açısından spesifik immün parametreler üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Kirubakaran vd., (2016), 20 mg/kg metanol özütünün intraperitoneal uygulamasının, *A. hydrophila* 'nın LD80 'ni etkilediği *O. mossambicus* 'un relativ hayatta kalma yüzdesini (RPS) arttırdığını tespit etmişlerdir. Kirubakaran vd. (2016) söz konusu bitki ekstraktının su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisinde uygulanmadan önce laboratuvarda moleküler düzeyde daha ileri deneyler ve saha düzeyinde etkinlik testleri ile desteklenmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Tan vd. (2017), araştırmalarında, *Trachinotus ovatus* 'ta alıç ekstresi (HTE) takviyesinin büyüme performansı, bağışıklık tepkileri, karaciğer antioksidan yetenekleri, büyüme ve bağışıklık ile ilgili ve ısı şoku protein genlerinin ekspresyonu ve patojen *Vibrio harveyi* 'ye karşı direnç üzerindeki etkilerini araştırmak için çalışma yapmışlardır. 0 (Diyet 1); 0,50 (Diyet 2); 1 (Diyet 3); 2 (Diyet 4); 4 (Diyet 5) ve 10 (Diyet 6) g kg^{-1} 'de HTE ile desteklenen diyetin en yüksek nihai canlı ağırlık, ağırlık artış oranı, spesifik büyüme oranı, yem verimlilik oranı ve protein verimlilik oranı açısından Diyet 2 grubundaki balıklarda olumlu yönde farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir ($P<0,05$). Hepatik antioksidan enzimler (SOD, T-AOC, CAT, GPx, GR) önemli ölçüde artarken, MDA içeriğinin önce azaldığı, sonra arttığını rapor etmişlerdir. *Vibrio harveyi* ile mücadeleden sonra, Diyet 2 ve Diyet 3 ile beslenen balıklarda, kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha yüksek hayatta kalma gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Büyüme ile ilgili genlerin (IGF-I ve IGF-II) transkripsiyon seviyeleri, balıkla beslenen HTE takviyesinde önemli ölçüde yukarı regüle edildiğini, HSP70 ve HSP90 mRNA seviyelerinin ise önemli ölçüde aşağı regüle edildiğini belirtmişlerdir. Antioksidan enzim genlerinin (CAT, GPx, MnSOD ve Keap1) ve sitokinlerin (IL-10, TGF-β1 ve TOR) ekspresyonlarının deney gruplarında aşağı yönde regüle edildiği de yine Tan vd., (2017) tarafından rapor edilmiştir. Bu sonuçlar, 0,50 g kg^{-1} HTE ile takviye edilmiş bir diyetle beslenen balıkların, büyüme performansını ve büyüme ile ilgili gen ekspresyonunu önemli ölçüde destekleyebileceğini, bağışıklığı güçlendirebileceğini ve hepatik antioksidatif yetenekleri ve *Vibrio harveyi* enfeksiyonuna karşı direnci iyileştirebileceğini göstermektedir.

Nhu vd. (2019), beş etanol bitki özütünün (*Phyllanthus amarus;* Pa, *Psidium guajava;* Pg, *Mimosa pudica;* Mp, *Azadirachta indica;* Ai, *Euphorbia hirta;* Eh), çizgili yayın (*Pangasianodon hypophthalmus*) balıklarında *Edwardsiella ictaluri* enfeksiyonuna karşı bağışıklık tepki ve hastalık direnci üzerine etkilerini araştırmışlardır. Nhu ve ar (2019), balıklara, her bitki özünden iki doz (%0 [bazal diyet]; %0,4 Eh [Eh0,4]; %2,0 Eh [Eh2,0]; %0,2 Pa [Pa0,2]; %1,0 Pa) eklenmiş diyetler verildi. [Pa1,0]; %0,2 Pg [Pg0,2]; %1,0 Pg [Pg1,0]; %0,4 Mp [Mp0,4]; %2,0 Mp [Mp2,0]; %0,4 Ai [Ai0,4]; %2,0 AI [Ai2,0]) 8 hafta boyunca vermişlerdir. Sonuçlar, ekstrakt bazlı diyetlerle beslenen balıkların hematolojik parametrelerinin (toplam kırmızı kan hücreleri, beyaz

kan hücreleri, lenfositler, monositler ve nötrofiller), 4 ve 8 hafta sonra kontrol diyetiyle beslenenlere göre önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermiştir. Nhu ve ar (2019), plazma lizozim aktivitesinin ise, 4. haftada (W4) her iki doz Eh içeren balıklarda artarken, lizozim aktivitesi %0,2 Pa ve Pg ile beslenen balıklarda ve %2 Ai ve Eh ile arttığını da belirtmişlerdir. Besleme denemesinin sonunda, kontrol grubuna kıyasla ekstrakt gruplarının çoğunda ACH50 seviyeleri önemli ölçüde arttığı, toplam immünoglobulinin, ekstrakt takviyeli diyetlerle beslenen balıklarda 8 hafta sonra hem plazma hem de deri mukusunda önemli ölçüde arttığı belirtilmiştir (Nhu vd., 2019).

Kanani vd. (2014), çalışmalarında, bitkisel desteklenmiş diyetle beslenen *Huso huso* yavrularının fizyolojik parametreleri ve büyüme performansları üzerinde yaptıkları araştırmalarında. Diyet tedavilerinin, 60 gün boyunca 0 g (kontrol), 1 g (sarımsak) ve 1 g (zencefil) 100 g^{-1} olarak orantılamışlardır. Deneme sonunda zencefil tedavisinde spesifik büyüme hızının, vücut ağırlığı artışının ve kondisyon faktörünün önemli ölçüde arttığı belirtilmiştir. En yüksek eritrosit ve hematokrit seviyelerinin, 60 gün sonra parmak zencefil grubunda gözlendiğini belirten Kanani vd. (2014), globulin zencefil grubunda da önemli ölçüde artış olduğunu ve en yüksek albümin düzeyinin sarımsak grubunda gözlendiğini de belirtmişlerdir. Özetle, bitkisel beslenmenin bu türde bazı büyüme ve fizyolojik parametreleri iyileştirebileceği görülmektedir.

Farsani vd. (2019), araştırmalarında, kişniş tohumu ekstraktının (*Coriandrum sativum*) sekiz hafta boyunca gökkuşağı alabalığı *Oncorhynchus mykiss* 'nın fizyolojik tepkilerini, bağışıklığı ve hastalık direnci üzerindeki etkinliğini belirlemeyi amaçlamışlardır. Toplam altı yüz gökkuşağı alabalığını (62±0,81g), 0 (kontrol), %0,5, %1 ve %2 kişniş tohumu özü (CSE) olmak üzere dört besleme grubuna ayırdıkları çalışmalarında, %2 CSE ile beslenen gökkuşağı alabalığını, sekiz hafta sonra kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, spesifik büyüme hızının (SGR), nihai ağırlığın (FW) ve kondisyon faktörünün (CF) önemli ölçüde daha yüksek değerlere ulaştığını tespit etmişlerdir. Farsani vd. (2019), hematolojik indeks sonuçlarına göre, %2'lik CSE dozunun, kontrol grubuna kıyasla en yüksek hematokrit ve hemoglobin miktarına ulaştığını, ek olarak, CSE tedavisinin %2 'sinde lizozim ve alternatif tamamlayıcı aktivitede önemli bir gelişme gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Farsani vd. (2019), beslemeden sekiz hafta sonra, 14 gün boyunca *Yersinia ruckeri* ile kontrol testi

başlatmışlardır. Bulguları, özellikle CSE ilavesinin %2 'si olmak üzere CES ile beslenen balıkların, *Y. Ruckeri* 'ye karşı hayatta kalma oranını iyileştirdiği; bununla birlikte kişniş tohumu ekstresi ile beslenen balıkların sekiz haftanın sonunda kontrol ve tedavi gruplarındaki balıklara göre önemli bir fark göstermediği sonucuna varmışlardır. Mevcut çalışma, diyete kişniş ekstraktının eklenmesinin büyüme faktörlerini, immünolojik indeksleri ve gökkuşağı alabalığının (*O. mykiss*) *Y. ruckeri* enfeksiyonuna karşı direncini iyileştirebileceğini bize göstermiştir.

Pourmoghim vd. (2015), hazırladıkları *Origanum vulgare* özütünü (OE) spesifik olmayan bir bitki olarak gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) bağışıklık uyarıcı ajan olarak etkisini değerlendirmek için araştırmışlardır. Ortalama ağırlıkları 13±0,05g olan gökkuşağı alabalıklarını (*Oncorhynchus mykiss*), günde bir kez, 8 hafta boyunca *Origanum vulgare* özütü (OE) katkılı yem ile beslemişlerdir. Sonuç olarak, serum toplam protein, albümin ve globülin ile birlikte solunum patlaması aktivitesi, fagositik aktivite ve serum lizozim aktivitesi iki tedavi arasında farklılık göstermiştir. OE takviyesinin %1 oranının diğer gruplara göre daha yüksek immünolojik tepkiler kaydettiğini bu nedenle, OE 'nin balık yemine dahil edilmesinin, gökkuşağı alabalıklarında spesifik olmayan bağışıklık tepkileri arttırabileceği belirtilmiştir (Pourmoghim vd., 2015).

Laith vd. (2017), *Excoecaria agallocha* yaprak ekstraktlarının tilapia, *Oreochromis niloticus* 'ta patojen olan *Streptococcus agalactiae* bakterisine karşı bağışıklık mekanizmaları ve direnci üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi için tasarladıkları çalışmalarında sırasıyla 10, 20, 30, 40 ve 50 mg kg^{-1} dozlarında *E. agallocha* yaprak ekstraktlarını denemişlerdir. *E. agallocha* 28 gün boyunca balık diyetinde yem takviyesi olarak uygulanmış ve hematolojik, immünolojik ve büyüme performansı çalışmaları yaptıkları çalışmanın sonunda, 15 x 10^5 CFU mL^{-1} dozunda *S. agalactiae* ile balıkları enfekte etmişlerdir. Sonuç olarak, *O. niloticus* 'un 50 mg kg^{-1} *E. agallocha* ile beslenmesinin WBC, fagositik, solunum patlaması, serum bakterisidal ve lizozim aktivitelerini arttırdığı bildirilmiştir. En yüksek ölüm oranı (%97) kontrol balıklarında, en düşük ölüm oranı (%27) ise 50 mg kg^{-1} ekstrakt ile beslenen grupta gözlendiği belirtilmiştir. Laith vd., (2017) *E. agallocha* metanolik yaprak ekstresinin *O. niloticus*

'ta S. agalactiae patojenine karşı spesifik olmayan bağışıklığı ve hastalık direncini arttırdığı sonucuna varmışlardır.

Kirubakaran vd. (2010), hint şifalı bitkisi *Nyctanthes arbortristis* L.'nin (NAT) tohum ekstraktının tilapia (*Oreochromis mossambicus*) balıklarında spesifik olmayan bağışıklık tepkileri ve hastalık direnci üzerindeki immünomodülatör etkisini araştırmışlardır. Kloroform özü, 3 hafta boyunca %0,01; %0,1 veya %1'lik dozlarda yem takviyesi olarak uygulandıktan sonra, serum lizozim ve alternatif kompleman hemolitik (ACH50) aktiviteleri ve hücresel reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif nitrojen ara maddesi (RNI) ve miyeloperoksidaz üretimi gibi spesifik olmayan bağışıklık parametreleri ve *Aeromonas hydrophila*'ya karşı hastalık direncini araştırmışlarıdr. Kirubakaran vd. (2010) sonuç olarak, NAT ‘ın serum lizozimini, alternatif tamamlayıcı aktivitelerini ve hücresel ROS, RNI ve MPO üretimini önemli ölçüde arttırdığını raporlamışlardır. Ayrıca söz konusu çalışmada %0,1 veya %1 düzeyinde NAT tohum özütünün *O. mossambicus*'un ölüm oranını önemli ölçüde azalttığı görülmüş olup; %0,1 ekstrakt takviyeli diyetle 3 haftalık bir beslemenin en uygun diyet olduğunu belirtmişlerdir (Kirubakaran vd., 2010).

Lee vd. (2020), *Bidens pilosa* (BPE), *Lonicera japonica* (LJE) ve *Cyathula officinalis* (COE) olmak üzere üç şifalı bitki özütünün kobia 'nın (*Rachycentron canadum*) in vitro ve in vivo spesifik olmayan bağışıklık parametreleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. In vitro testler sırasında, BPE uygulamasının baş böbrek lökositlerinde reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini doza bağlı bir şekilde arttırdığını, benzer şekilde, ROS üretim oranlarını, LJE (50 ve 100 mg/ml) ve COE (100 mg/ml) uygulamalarının da arttırdığını raporlamışlardır. Söz konusu üç bitki özünün bağışıklık uyarıcı özelliklere sahip olduğunun belirtildiği çalışmada; kobia'nın doğuştan gelen bağışıklık parametreleri üzerindeki etkilerini incelemek için iki besleme denemesi daha gerçekleştirmişler ve spesifik olmayan bağışıklık tepkilerini etkinleştirmek için gereken optimal besin takviyesi oranını tespit etmeye çalışmışlardır. İlk denemede, diyeti bireysel ekstraktların %1, %5 veya %10'unu oluşturan on haftalık bir besleme denemesi gerçekleştirilmiş, balıklarda kilo alımı, yem dönüşüm oranı ve hayatta kalma oranı üzerinde olumsuz bir etki gözlemlenmediğini tespit etmişlerdir. Ayrıca, kontrol grubundaki balıklarla karşılaştırıldığında, bitkisel ekstraktlarla beslenen balıklarda

ROS üretimi, baş böbrek lökositlerinin fagositik kapasitesi ve serum lizozim aktivitesi farklı derecelerde arttırdığı da belirtilmiştir. Lee vd., (2020), daha sonra, kobiadaki doz yanıtlarını çeşitli zaman noktalarında belirlemek için daha düşük ekstrakt konsantrasyonları (diyetin %5'i, 3 ve %5'i) ile 30 günlük bir besleme denemesi gerçekleştirmişler, balıkların kg yem başına 30 g LJE aldığında ROS üretiminin, fagositik hız ve serum lizozim aktivitesi gibi bağışıklık parametrelerini tetiklediğini, ancak, ROS üretiminin yalnızca LJE10 grubunda (%1 LJE) 30. günde arttığını ve LJE50 grubunda (%5 LJE) ise artmadığını belirtmişlerdir. Ek olarak, LJE50 grubunda fagositik hız ve fagositik indeks indüklenmiş olmasına rağmen, incelenen herhangi bir zaman noktasında bu grupta (LJE50) serum lizozim aktivitesi söz konusu çalışmada yükselmemiştir.

Tan vd. (2017), karahindiba özü (DE) takviyesinin büyüme performansı, yem kullanımı, vücut bileşimi, plazma biyokimyasal indeksleri, bağışıklık tepkileri, hepatik antioksidan yetenekleri ve *Trachinotus ovatus* 'ta patojen *Vibrio harveyi* 'ye karşı direnç üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Söz konusu çalışmada 0; 0,5; 1; 2; 4 ve 10 g kg^{-1} 'de DE ile desteklenmiş diyet altın pompano'ya 8 hafta boyunca uygulanmıştır. Çalışmada, DE ile diyet takviyesinin nihai vücut ağırlığı (FBW), ağırlık artış oranı (WGR), spesifik büyüme oranı (SGR), yem verimlilik oranı (FER), yem alımı (FI), protein verimlilik oranı (PER) önemli ölçüde olumlu açıdan gelişme gözlenmiştir. Kondisyon faktörü, visserosomatik indeks, hepatosomatik indeks ve sağ kalım açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılığın tespit edilemediği çalışmada, 1 g kg^{-1} diyet DE ile beslenen balıklarda, plazma toplam protein, kompleman 4 içeriği ve alkalin fosfataz, lizozim, glutatyon redüktaz (GSR) aktivitesinde önemli artış meydana geldiği, ancak trigliserit, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol, malondialdehit (MDA) içeriği ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aspartat aminotransferaz aktivitelerinin düştüğü belirtilmiştir. Hepatik antioksidan enzimler (SOD, T-AOC, CAT, GSH-Px, GSR) önemli ölçüde artarken, MDA içeriği 1 g/kg^{-1} DE takviyesi ile beslenen balıklarda önemli ölçüde azalmıştır. Tan vd., (2017), *Vibrio harveyi* ile mücadeleden sonra, balıkla beslenen DE takviyesinde önemli ölçüde daha yüksek mücadele sonrası hayatta kalma gözlemlenen çalışmada, altın pompano'nun DE ile takviye edilmiş diyetle (özellikle 1 g/kg^{-1} yem takviyesinde) beslenmesinin büyüme performansını, yem kullanımını, vücut protein birikimini, bağışıklık kabiliyetini,

hepatik ve plazma antioksidatif enzim aktivitelerini önemli ölçüde artırabileceğini ve *Vibrio harveyi* tarafından enfeksiyona karşı direnç gösterdiği sonucuna varmışlardır.

Muthulakshmi vd. (2016), bitki kaynaklı immünostimülanların, kemoterapötiklere ve belki de aşılar yerine umut verici bir alternatif olabileceğini düşündükleri çalışmalarında, geleneksel bir Hint şifalı bitkisi olan *Phyllanthus niruri*'nin sulu yaprak ekstraktının, *Oreochromis mossambicus*'un (Peters) nötrofil aktivasyonu ve antikor yanıtı üzerindeki bağışıklık uyarıcı özelliklerini incelemişlerdir. 0,002 mg ila 20 mg arasında değişen seri on kat seyreltilmiş *P. niruri* dozları, iki *O. mossambicus* grubuna (n=8) uygulanmıştır. Bir grup balığa koyun kırmızı kan hücreleri uygulandığını ve birincil ve ikincil antikor tepkilerinin, doğrudan hemaglütinasyon tahlili kullanılarak tahmin edildiğini belirtmişlerdir. Söz konusu çalışmada diğer balık grubuna, bitki ekstraktının nötrofil aktivasyonunu ortaya çıkarma yeteneğini değerlendirmek için ısıyla toplanmış BSA uygulandığını, sonuç olarak hem nötrofil aktivasyonunda hem de antikor tepkisinde önemli bir artış olduğunu tespit etmişlerdir. Test edilen çeşitli dozlar arasında, 20 mg/kg vücut ağırlığı uygulanan balıklar, hem birincil hem de ikincil antikor yanıtında maksimum artışa neden oldu ve kontrol grubuna kıyasla 0,002 mg/kg daha yüksek nötrofil aktivasyonu göstermiş olup, *P. niruri*'nin sulu yaprak ekstraktının bir bağışıklık uyarıcı olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu ve diğer spesifik olmayan ve spesifik parametreler üzerinde bir dizi testle bağışıklık uyarıcı özelliklerini doğruladıktan sonra gösterdiklerini belirtmişlerdir.

Hoseinifar vd. (2018), mükemmel bir besin ve fitokimyasal kaynağı olarak hünnap (*Ziziphus hünnap*) meyve özütünün (JFE) ortak sazan (*Cyprinus carpio*) yavrularının bağırsak bağışıklığına dahil olan genlerin doğuştan gelen bağışıklık tepkileri ve ifadesi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Serum spesifik olmayan bağışıklık parametreleri [toplam immünoglobulin (Ig) yanı sıra alternatif tamamlayıcı (ACH50) ve lizozim aktivitesi (SL)] ve bağırsak bağışıklığına dahil olan genlerin ifadesinin (lyz, tnf-alfa, il1b, il8, il10, ve tgfb) ölçülmesi neticesinde, kontrol balığına göre JFE ile beslenen balıklarda önemli bir Ig seviyesi yükselmesi ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, serum toplam Ig durumunda tedavi edilen gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı en yüksek SL ve ACH50 seviyelerinin, %1 JFE ile beslenen balıklarda gözlendiğini belirtmişlerdir (Hoseinifar vd., 2018). Bununla birlikte, kontrol ve diğer

takviye edilmiş grupların SL ve ACH50 'si (%0,25 ve %0,5 JFE) ile ilgili olarak anlamlı bir fark görülmediğini, ayrıca, JFE ile beslenen balıklarda doza bağlı bir şekilde lyz, tnf-alfa ve il1b genlerinin ekspresyonu önemli ölçüde arttığını belirtmişlerdir. Öte yandan, tedavi edilen gruplarda il-10 ve tgfb'nin önemli aşağı regülasyonu olduğu rapor edilmiştir. Mevcut bulgular çerçevesinde Hoseinifar vd. (2018), Hünnap, meyvesinin ekstraksiyonunun, yaygın sazanların bağışıklık tepkileri üzerinde faydalı etkilere sahip olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Chakrabarti vd. (2014), balıklarda immünostimulantların fonksiyonel mekanizmasının değerlendirilmesinin, balıkların terapötik potansiyellerini gerçekleştirmek için gerekli olduğunu belirtmişler ve *Achyranthes aspera* tohumlarının *Catla catla*'nın bağışıklık sistemi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Catla (37,73±6,7 g), *A. aspera*'nın 0,5 (D1) ve % 1 (D2) tohumlarını içeren test diyetleri ve 50 gün boyunca kontrol diyeti (D3) ile beslenmeleri neticesinde. *Aeromonas hydrophila* ile aşılanmış, aşılamadan 7 gün sonra kan ve doku örnekleri toplanmıştır. Chakrabarti vd., (2014), Catla ile beslenen grupların, kontrol grubuna kıyasla solunum patlaması aktivitesinin, bakterisidal aktivitenin ve antikor yanıtının önemli ölçüde yükseldiğini belirtmişlerdir. Chakrabarti vd., (2014), nitrik oksit sentaz ve serum lizoziminin diğer tedavilere kıyasla D2 diyeti ile beslenen balıklarda önemli ölçüde daha yüksek olduğunu, kontrole kıyasla test rasyonlarında böbrekte TNFa, lizozim c ve g gen ekspresyonlarında ve hepatopankreasta IL-10, lizozim c ve g ekspresyonlarında artış olduğunu tespit etmişlerdir. IL-10 ekspresyonun ise, diğerlerine kıyasla D2 diyeti ile beslenen balıkların böbreklerinde azalışa geçtiği raporlanmıştır. Chakrabarti vd., (2014), solungaçta, D1 diyeti ile beslenen balıklarda ve lizozim c'de ve D2 diyeti ile beslenen balıklarda diğer gruplara göre önemli ölçüde daha yüksek TNFa ekspresyonlarının bulunduğunu belirtmişlerdir.

Zhou vd. (2015), *Trachinotus ovatus*'ta diyet soya fasulyesi izoflavonları (SI) takviyesinin büyüme performansı, doğuştan gelen bağışıklık tepkileri, hepatik antioksidan yetenekler, ısı şoku proteini 70 (HSP70) gen ekspresyonu ve patojen *Vibrio harveyi*'ye karşı direnç üzerindeki etkilerini araştırmak için yapılmıştır. 8 hafta boyunca 0, 10, 20, 40, 60, 80 mg kg^{-1} beslemede SI ile bazal bir diyet desteklendi. 40 mg kg^{-1} SI takviyesi ile tedavide önemli ölçüde maksimum kilo artışı (WG) ve spesifik

büyüme hızı (SGR) gözlendi. Yem dönüşüm oranı (FCR), yemleme oranı (FR) ve hayatta kalma oranı, tedaviler arasında önemli ölçüde farklı değildi. 40 mg kg^{-1} SI ile beslenen balıklar, plazma toplam protein içeriğinde, kompleman 3 içeriğinde, lizozim aktivitesinde ve ayrıca solunum patlama aktivitesinde önemli artış, ancak alanin aminotransferaz ve aspartat aminotransferaz aktivitelerinde azalma gösterdi. Artmış plazma alkalin fosfataz aktivitesi, hepatik toplam antioksidatif kapasite, katalaz aktivitesi ve süperoksit dismutaz aktivitesi de 40 veya 60 mg/kg SI ile beslenen balıklarda fark edildi. Aksine, en düşük hepatik malondialdehit (MDA) içeriği SI ile beslenen balıklarda 40 mg kg^{-1}'de gözlendi. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 40-80 mg/kg'de SI ile beslenen balıklardaki bağıl HSP70 mRNA seviyesi sırasıyla önemli ölçüde arttı. *V. harveyi* ile mücadeleden sonra, 40-80 mg/kg^{-1} SI takviyesi ile balıkla beslenen diyetlerde, kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha yüksek tehdit sonrası hayatta kalma gözlemlendi. Bu sonuçlar, SI içeren diyet alımının balığın bağışıklık yeteneğini artırabileceğini ve *V. harveyi* tarafından enfeksiyona karşı direncini artırabileceğini göstermiştir. Özellikle balığa 8 hafta boyunca 40 mg kg^{-1} SI takviyesi, büyüme, spesifik olmayan bağışıklık tepkileri, hepatik antioksidan yetenekler ve HSP70 gen ekspresyonunda dikkate değer bir iyileşme gösterdi.

Zhang vd. (2019), bu çalışma, bazal diyet (CON) veya AB destekli 5,0 g/kg (EU1) ile beslenen kalkan balığının büyüme, yemden yararlanma, antioksidan aktivite ve bağışıklık tepkileri üzerindeki *Eucommia ulmoides*'in (EU) etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır. 10,0 g/kg (EU2) ve 20,0 g/kg (EU3) AB yaprak tozu. 70 günlük denemeden sonra, AB takviyesi, besin kullanımını etkilemedi, ancak 5,0 g/kg'ın üzerindeki dozlarda yem alımını (FI) ve balıkların spesifik büyüme oranını (SGR) azalttı. AB destekli gruplarda süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve toplam antioksidan kapasite (T-AOC) aktiviteleri, 20,0 g/kg'lık bir dozda kontrol grubundakilerden önemli ölçüde daha yüksekti. AB destekli gruplarda 5,0 g/kg 'ın üzerindeki dozlarda önemli ölçüde azalmış malondialdehit (MDA) içeriği gözlendi. Ayrıca, 20,0 g/kg AB ile beslenen balık, gruplar arasında en yüksek lizozim (LZM) aktivitesini göstermiştir. 5,0 g/kg'ın üzerindeki dozlarda AB destekli diyetler, sitokinlerin mRNA ekspresyonlarını önemli ölçüde arttırdı. Ek seviye 20 g/kg olduğunda, ana histo-uyumluluk kompleksi II alfa (MHC IIa) ekspresyon seviyesi, kontrol balığınınkine kıyasla önemli ölçüde yukarı regüle edildi. Birlikte ele

alındığında, bu çalışma, AB'nin kalkanda antioksidan aktiviteyi, spesifik olmayan bağışıklığı önemli ölçüde artırabileceğini ve aktif bir bağışıklık tepkisini sürdürebileceğini göstermiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Balık Materyali

Tez araştırmasında yaklaşık 13,58±0,35 g ağırlığında olan 360 adet gökkuşağı alabalığı yavrusu kullanılmıştır. Deney balıkları Kastamonu Ilgaz Gürsu Alabalık işletmesinden temin edilmiş olup, Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi akuatik toksikoloji laboratuvarına getirilmiştir. Temin edilen gökkuşağı alabalıkları 2 hafta boyunca adaptasyon sürecine tabi tutulmuştur. Adaptasyon sonrası balıklar tanklara eşit ağırlıkta ve sayıda dağıtılmıştır.

3.1.2 Deneme Yeri, Deney Sistemi

Araştırmada kullanılan sistem çökeltme havuzu, kum filtre, soğutma ünitesinden oluşmakta olup, deneme için her biri 100 L olan tanklardan 12 tane kullanılmıştır. Gökkuşağı alabalıkları, tanklara rastgele 30'ar adet olacak şekilde stoklanmıştır. Balıklar deneme gruplarına metanolik özüt konsantrasyonlarına göre toplam 4 gruba (kontrol, %0,1; %0,5; %1) ayrılmıştır. Her bir grup için 3'er tekerrür olacak şekilde toplam 12 adet tank kullanılmıştır. Deneyde 15, 30 ve 45. günlerde örneklemeler yapılmış olup, 45. günün sonunda *Aeromonas hydrophila* bakterisi ile kontrol testine tabi tutulmuş ve gruplara göre yaşama oranları karşılaştırılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Beyaz Haşhaş Sulu Metanolik Ekstraktının Çıkarılması

Deneylerde kullanılan beyaz haşhaş kurutma işlemi yapıldıktan sonra metanolik özütleri çıkartılmıştır (Bilen vd., 2016). Sulu methanolik özü çıkarma işleminde, 1 L'lik % 40'lık methanol çözeltisi içerisinde 100 g bitki tozu eklenerek başlatılmıştır. Karışım karanlık ve serin ortamda zaman zaman çalkalanarak üç gün boyunca bekletilmiştir. Daha sonra çözelti katı partiküllerinden ayrılmak için süzülmüştür.

Süzülmüş çözelti vakum entegrasyonlu evaporatörden geçirilerek önce 60 °C ‘de metanolün sonra 80°C ‘de suyun uçurulması işlemleri belirli sürelerde gerçekleştirilmiştir. Özüt miktarını net olarak belirlemek ağırlık ve hacim miktarları tayin edilerek tespit edilmiştir. Bu özütler çalışma müddetince de +4 C° ’de tutulmuştur.

3.2.2 Kan ve Doku Örneklemelerinin Yapılması

Denemenin 15, 30 ve 45. günlerinde kan, böbrek, bağırsak ve dalak örnekleri alınmıştır. Her tanktan 3’er adet balık (n=9) olacak şekilde örnekleme yapılmıştır. Örnekleme rastgele ve hızlıca gerekli bayıltma işlemleri ile gerçekleştirilmiştir. Bayıltma sonrası 1 mL lik insülin enjektörleri (5000 IU/ml heparin içeren) kullanılarak kan alınmıştır. Serum örneklemesi için kan 5300 rpm devirde 5 dakika santrifüj edilmiş, serumlar – 80 °C ‘de saklanmıştır. Deneyler Kastamonu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu ‘nun 2020,34 sayılı kararı ile alınan etik kurul izin ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.3 Bağışıklık Yanıtların Belirlenmesi

3.2.3.1 Oksidatif radikal üretimi (ORÜ)

Bu işlem için NBT indirgenmesi yöntemi kullanılmıştır (Siwicki ve Anderson, 1993). Kısaca 0,1 ml kan örneklerinin, % 0,2 NBT içeren 0,1 ml solüsyon ile karıştırılması sonrasında 24 ºC’de 30 dk inkübasyonu sağlanmış, aktivasyonu durdurabilmek için 1 ml N,N-dimethilformamid karışıma eklenmiştir. Santrifüj ile (4000 rpm de 5 dk) partiküller süspansiyondan ayrılmıştır. Spektrofotometrede optik yoğunluk ölçümü 540 nm absorbans değerinde gerçekleştirilmiş ve N,N-dimethil formamid kör örneğine karşı okunmuştur.

3.2.3.2 Lizozim aktivitesi

Serum lizozim aktivitesi için, 1 tablet 0,02 g *Micrococcus lysodeicteus* bakterisinin çözünmesiyle elde edilen karışıma 40 µl serum eklenmiş ve 530 nm absorbans değerinde 0. ve 4. dakikalarda okutma işlemi gerçekleştirilmiştir (Ellis, 1990)(1).

Lizozim = [(ilk okuma-son okuma)*1000] / serum miktarı= U/µl …….(1)

3.2.3.3 Myeloperoksidaz aktivitesi

Modifiye edilen Quade ve Roth (1997) ve Cuesta vd. (2002) yöntemleri ile MPO analizi yapılmıştır. 1 tablet fosfat sitrat 100 ml saf suda çözülerek hazırlanan çözelti sonrasında 1 tablet tetramethilbenzidin dihidroklorür ilk hazırlanan çözeltiden 10 ml alınarak çözülmüştür. Sonrasında 370 µl Hank's Balanced Solüsyonu (HBSS) 30 µl serum ile karıştırılmış ve okutmandan hemen önce karışım çözeltiden 100 µl üzerine ilave edilmiştir. 450 nm'de 0. ve 4. dakikalarda okutmalar gerçekleştirilerek hesaplanmıştır (2).

MPO = Absorbans farkı * 1906,4 = U/ µl …….(2)

3.2.3.4 Gen ekspresyonu

Çalışmada her 15, 30 ve 45. günlerde balıkların ön böbrek ve bağırsak dokularından toplam RNA izolasyonu yapılarak ardından cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Saflık ve konsantrasyon ölçümleri yapılan cDNA lardan uygun primerler kullanılarak balıkların gen sunumları gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.5 Total RNA izolasyonu

Örnekleme zamanlarında alınan böbrek ve bağırsak doku örneklerinden toplam RNA izolasyonu, BIOLINE kiti (ISOLATE II RNA Mini Kiti) protokolüne göre yapılmıştır. Bunun için, alınan örnekler 600 µl Trizol içerisinde homojenize edilmiştir. Gerekli santrifüj adımları uygulandıktan sonra Total RNA elde edilmiştir. Elde edilen RNA'nın saflığı ve kalitesi Multiscan GO (Thermo Scientific, USA) kullanılarak belirlenmiştir. Miktarı belirlenen örnekler 15 ng/µl olacak şekilde seyreltilmiş sonrasında cDNA hazırlaması için kullanılmıştır.

3.2.3.6 Komplementer DNA (cDNA) sentezi

Seyreltme işlemi yapılan RNA'lar genomik DNA'nın uzaklaştırılması amacıyla 1 U DNase I (BIOLINE) enzimine maruz bırakılmıştır. İzole edilen Total RNA'dan, BIOLINE kit (SensiFAST TM cDNA Synthesis Kit) kullanılarak cDNA sentezi sağlanmıştır. Bunun için gerekli reaksiyon karışımı hazırlanarak thermal cycler (ThermoFischer Scientific) içerisinde protokollere uygun aşamalarından geçirilerek cDNA sentezlenmiştir. Sentezlenen cDNA'nın saflığı ve kalitesi Multiscan GO (Thermo Scientific, USA) kullanılarak tayin edilmiştir.

3.2.3.7 Kantitatif gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) analizi

cDNA sentezinden sonra qRT-PCR analizi Rotor-Gene qPCR algılama sistemi (Qiagen, Almanya) ve SensiFAST SYBR No-ROX Kit PCR kiti (BIOLINE, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada eksprese edilen genlerin spesifik primer dizileri ve referansları Tablo 2.1 'de listelenmiştir.

Tablo 2.1 Çalışmada Kullanılan Primerler

Gen	Primer (5'-3')	Boyut (bp)
β-Actin	F5' ATGGAAGGTGAAATCGCC 3' R5' TGCCAGATCTTCTCCATG 3'	186
IL-1β	F5' ACCGAGTTCAAGGACAAGGA 3' R5' CATTCATCAGGACCCAGCAC 3'	181
IL-6	F5' ACTCCCCTCTGTCACACACC 3' R5' GGCAGACAGGTCCTCCACTA 3'	91
IL-8	F5' CACAGACAGAGAAGGAAGGAAAG 3' R5' TGCTCATCTTGGGGTTACAGA 3'	162
IL-10	F5' CGACTTTAAATCTCCCATCGAC 3' R5' GCATTGGACGATCTCTTTCTTC 3'	70
IL-12	F5' GAACCCAGACGACGATGATT 3' R5' GTTCAAACTCCAACCCTCCA 3'	190
COX-2	F5' GGGCTTTGACATCCTCAACA 3' R5' CATCGGACAAGAACCCTTGA 3'	73

3.2.4 Büyüme Performansı

Balıkların canlı ağırlıkları, örnekleme zamanlarında hassas terazi kullanılarak tespit edilmiştir. Bireysel canlı ağırlık artışı (CAA)(3); periyot sonundaki canlı ağırlık değerinden (A2) periyot başlangıcındaki canlı ağırlık değeri (A1) çıkartılarak hesaplanmıştır (Ricker, 1979).

CAA=A2-A1 …… (3)

Spesifik büyüme oranı; SBO : Spesifik büyüme oranı; Wf : Periyot sonundaki bireysel ağırlık; Wi : Periyot başındaki bireysel ağırlık; t : Zaman (gün olarak) belirtilen formüldeki gibi hesaplanmıştır (4).

SBO= 100 x (Ln Wf – Ln Wi / t) ……..…… (4)

3.2.5 Sindirim Enzimi

3.2.5.1 Amilaz

Pankreas tarafından, bağırsak ve plorikseka içerisine salgılanan alpha-amilaz, karbonhidrat sindiriminde anahtar role sahip bir sindirim enzimidir. Amilaz aktivitesi, Worthington (1991)' e göre modifiye edilerek yapılmıştır. Bu maksatla nişasta substratı 0,02 M sodyum dihidrojen fosfat, NaH2P04, 0,006 M sodyum klorür ve NaCl içeren bir tamponda seyreltilmiştir. 250 µl substrat 25 °C'de 3-4 dakika süreyle 50µl doku homojenatı ve 250 µl tampon çözeltisi ile karıştırılıp inkübe edilmiştir. Bunun üzerine 0,5 ml %1 dinitrosalisilik asit (DNS) çözeltisi ilave edilmiş ve 5 dakika kaynatılmıştır. Kaynama işleminden sonra, karışıma 5 ml damıtılmış su eklenmiş ve soğutulmuş, çözeltinin absorbansı 540 nm'de kaydedilmiştir. Amilaz aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (5).

Amilaz aktivitesi (U/mg protein) = {[(A numune – A blank)^2 X 7.712] – [1.082 X (A numune – A blank)] + 0.082} / mg protein …… (5)

3.2.5.2 Tripsin

Tripsin aktivitesi Erlanger, Kokowsky ve Cohen (1961)' e göre belirlenmiştir. Bu yönteme göre, doku çözeltisi N-a-benzoil-dlarginin-p-nitroanilid (BAPNA) substrat ile ölçülmüştür. Aşağıda belirtilen formül ile hesaplanmıştır (7). BAPNA (50 mM Tris-HCl; 1 mM, pH 8,2, 20 mM $CaCl_2$) ile karıştırılmış ardından 37 °C'de bekletildikten sonra 0. dakika ve 10. dakikada 410 nm absorbans değerinde okumalar yapılmış ve sonuçlar hesaplanmıştır (6).

Absorbans farkı; Absorbans sonucu = son sonuç – ilk sonuç / 10 dk……..... (6)

Tripsin aktivitesi (U/mg protein); (absorbans sonucu x 113,6363) / (2 x mg protein).(7)

3.2.5.3 Pepsin

Pepsin aktivitesi Worthington (1993)'e göre yapılmıştır. Bunun için, 0,01 N HCI içerisinde 100 µl doku süspansiyonu 500 µl substrat ile karıştırılıp 37 ° C'de 10 dakika inkübasyonu sağlanmıştır. Reaksiyon % 5 trikloroasetik asit (TCA; Sigma-Aldrich) çözeltisinde 1 ml konarak durdurulmuş ve 12000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek ayrıştırılmıştır. Spektrofotometrede 280 nm'de ölçülmüştür. Blank olarak enzim TCA eklenmiştir ve spesifik aktivite (U) aşağıdaki formüle göre bulunmuştur (8).

Pepsin aktivitesi (U/mg protein) = [(A numune - A blank) x 1000] / (10 dk x mg protein) ……. (8)

3.2.5.4 Lipaz

Lipaz seviyesi için, n-nitrofenil miristatın hidrolizi ile bağırsak homojenatı işleme tabi tutulmuştur. Numuneler (0,5 ml), 0,53 mM n-nitrofenilmiristat, 0,25 mM 2-metoksietanol, 5 mM sodyum cholat ve 0,25 M Tris-HCl (pH 9,0) içermektedir. 15 dakika süreyle 30 °C'de gerçekleştirilen inkübasyon sonucunda reaksiyon, 0,7 ml aseton/n-heptan (5:2, v/v) ilave edilerek durdurulmuştur. Reaksiyon karışımı kuvvetlice çalkalanarak ve 2 dakika boyunca 6100 rpm'de santrifüj işlemine tabi

tutulmuştur. Absorbans, ölçümü 405 nm'de gerçekleştirilmiştir (Higgs vd., 1979). Lipaz aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (9).

Lipaz aktivitesi (U/mg protein) = [(A numune – A blank) X 0,0487 / mg protein]…(9)

3.2.6 Kontrol Testi

Çalışmanın 45. gününde intraperitonal olacak şekilde balıklara *Aeromonas hydrophila* bakterisi enjekte edilmiştir. Enjeksiyon sonrasında enfeksiyonların başlaması ile birlikte balıkların hayatta kalma oranları 7 gün boyunca kontrol edilmiştir. Sonuçlar yüzde yaşam oranı olarak belirtilmiştir.

3.2.7 İstatistiksel Analizler

Araştırma sonuçları, SPSS v. 16 programı yardımıyla önce homojenite testi (Levene testi) uygulandıktan sonra varyans analizi uygulanarak (ANOVA) ve LSD Multiple Range test'ine tabi tutularak yapılmıştır ($P<0,05$).

4. BULGULAR

4.1 Büyüme Performansı

Çalışma sonunda elde edilen büyüme performansı verileri Tablo 4.1. ‘de ifade edilmiştir.

Tablo 4.1 Beyaz Haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının büyüme performansında meydana gelen değişimler

	İlk Ağırlık (g)	Son Ağırlık (g)	YDO	SBO	AK (%)
Kontrol	12,2±0,0	32,8±0,4^{c}	1,0±0,0^{b}	2,2±0,1^{c}	168,1±0,4^{c}
B01	12,2±0,0	35,1±0,6^{b}	1,0±0,0^{b}	2,4±0,1^{b}	187,6±0,21^{b}
B05	12,2±0,0	35,7±0,7^{b}	1,1±0,0^{a}	2,4±0,1^{b}	192,4±0,14^{b}
B1	12,2±0,0	38,1±0,0^{a}	1,0±0,0^{b}	2,5±0,1^{a}	211,8±0,81^{a}

B01: Beyaz haşhaş 0,1 g/kg; B05: Beyaz haşhaş 0,5 g/kg; B1: Beyaz haşhaş 1 g/kg; YDO: Yem Değerlendirme Oranı; SBO: Spesifik Büyüme Oranı; AK: Ağırlık Kazanımı

Bu sonuçlara göre 45 gün boyunca beyaz haşhaş (*Papaver somniferum*) sulu methanolik özütü ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının büyüme performanslarında gruplar değerlendirildiğinde tüm deneme gruplarının son ağırlık kazanımları kontrol grubuna kıyasla önemli derecede artış göstermiştir ($P<0,05$). Buna ek olarak en yüksek son ağırlık 38,1±0,01 g ile B1 grubunda elde edilmiştir ($P<0,05$). Son ağırlık artışı B05 grubunda 35,7±0,7 ve B01 grubunda ise 35,1±0,6 olarak tespit edilmiştir. Grupların yem değerlendirme oranları ele alındığında kontrol, B01 ve B1 grupları arasına bir farklılık gözlenmezken ($P>0,05$) bunlardan farklı olarak B05 grubunda bir atış gözlenmiş ve tüm diğer gruplardan önemli derecede farklılık göstermiştir ($P<0,05$). Grupların spesifik büyüme oranları (SBO) değerlendirildiğinde son ağırlık sonuçlarına benzer olarak en yüksek SBO B1 grubunda gözlenmiştir ($P<0,05$). Yem değerlendirme oranı (YDO) B05 grubunda diğer gruplara kıyasla önemli derecede artış göstermiştir ($P<0,05$). Bununla birlikte diğer gruplar arasında bir farklılık gözlenmemiştir.

4.2 Sindirim Enzimleri

Sindirim enzimlerinden meydana gelen değişimler Tablo 4.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2 Enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimler.

Gruplar	Amilaz (U/mg protein)	Tripsin (U/mg protein)	Pepsin (U/mg protein)	Lipaz (U/mg protein)
Kontrol	0,09±0,01	2149,19±415,93	58,52±8,62	0,07±0,01^{b}
B01	0,09±0,01	2899,13±51,52	61,82±3,91	0,01±0,00^{b}
B05	0,10±0,01	2359,38±567,46	75,10±28,32	0,03±0,01^{b}
B1	0,09±0,02	3006,49±261,61	72,20±25,63	0,09±0,35^{a}

B01: Beyaz haşhaş 0,1 g/kg; B05: Beyaz haşhaş 0,5 g/kg; B1: Beyaz haşhaş 1 g/kg. üstel ifadeler gruplar arsındaki farklılıkları ifade eder (P<0,05).

Tüm gruplar değerlendirildiğinde amilaz aktivitesi farklılık göstermemiştir. Tripsin aktivitesi, en yüksek değerine B1 grubunda sonra sırasıyla B01, B05 ve kontrol gruplarında gözlenmiştir. Gruplar arasında tripsin aktivitesi farklık göstermiş olmakla birlikte bu farklılık istatistiki olarak önem arz etmemektedir. Pepsin aktivitesi tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir fakat bu farklılık önemsizdir (P>0,05). Lipaz aktivitesi B01, B05 ve kontrol grupları arasında benzerlik gösterirken bunlardan farklı olarak en yükse lipaz değeri 0,09±0,35 ile B1 grubunda tespit edilmiştir (P<0,05).

4.3 İmmünolojik Değişimler

4.3.1 Humoral Yanıtlar

4.3.1.1 Oksidatif radikal üretimi

Oksidatif radikal üretimlerinde meydana gelen değişimler Tablo 4.3.'te verilmiştir.

Tablo 4.3 Oksidatif radikal değişimlerinde meydana gelen değişimler (mg/ml).

Gruplar	15. Gün	30. Gün	45. Gün
Kontrol	0,86±0,07	0,92±0,17	0,97±0,05^{b}
B01	0,90±0,10	0,92±0,12	0,98±0,06^{b}
B05	0,94±0,05	0,93±0,22	0,86±0,15^{b}
B1	0,84±0,08	0,95±0,11	1,23±0,03^{a}

B01: Beyaz haşhaş 0,1 g/kg; B05: Beyaz haşhaş 0,5 g/kg; B1: Beyaz haşhaş 1 g/kg. üstel ifadeler gruplar arsındaki farklılıkları ifade eder (P<0,05).

4.3.1.2 Potansiyel öldürme aktivitesi

Potansiyel öldürme aktivitesinde (PÖA) meydana gelen değişimler Tablo 4.4.'te verilmiştir.

Tablo 4.4 Potansiyel öldürme aktivitesi (OD 640)

Gruplar	15. Gün	30. Gün	45. Gün
Kontrol	$0,18\pm0,01^{b}$	$0,19\pm0,04^{c}$	$0,30\pm0,01^{c}$
B01	$0,51\pm0,03^{a}$	$0,41\pm0,05^{b}$	$0,74\pm0,04^{b}$
B05	$0,51\pm0,12^{a}$	$0,73\pm0,17^{a}$	$0,80\pm0,14^{b}$
B1	$0,72\pm0,02^{a}$	$0,60\pm0,09^{a}$	$1,22\pm0,03^{a}$

B01: Beyaz haşhaş 0,1 g/kg; B05: Beyaz haşhaş 0,5 g/kg; B1: Beyaz haşhaş 1 g/kg. üstel ifadeler gruplar arsındaki farklılıkları ifade eder (P<0,05).

Bu sonuçlara göre çalışmanın tüm örnekleme dönemlerinde PÖA tüm deneme gruplarında kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir (P<0,05). Çalışmanın 15. gününde ise deneme gruplarının kendi içlerinde değerlendirildiğinde en yüksek değer B1 grubunda gözlenmiş olmakla birlikte bu fark istatistiki açıdan önemli olarak tespit edilememiştir (P>0,05). Bununla birlikte çalışmanın otuzuncu günüde B1 ve B05 gruplarının PÖA değerleri B01 grubunda yüksek olarak tespit edilmiştir (P<0,05). Çalışma sonunda ise en yüksek değer B1 grubunda tespit edilmiştir (P<0,05).

4.3.1.3 Lizozim aktivitesi

Lizozim aktivitesinde meydana gelen değişimler Tablo 4.5.'te verilmiştir.

Tablo 4.5 Lizozim aktivitesi (U/ml)

Gruplar	15. Gün	30. Gün	45. Gün
Kontrol	$0,42\pm0,23^{c}$	$0,43\pm0,15^{c}$	$0,43\pm0,16^{c}$
B01	$0,99\pm0,22^{b}$	$0,95\pm,09^{b}$	$0,98\pm0,08^{b}$
B05	$1,24\pm0,27^{a}$	$1,13\pm0,27^{a}$	$1,21\pm0,02^{a}$
B1	$1,11\pm0,01^{b}$	$1,10\pm0,01^{a}$	$1,26\pm0,03^{a}$

B01: Beyaz haşhaş 0,1 g/kg; B05: Beyaz haşhaş 0,5 g/kg; B1: Beyaz haşhaş 1 g/kg. üstel ifadeler gruplar arsındaki farklılıkları ifade eder (P<0,05).

Çalışmanın 15. gününde en yüksek lizozim aktivitesi B05 grubunda tespit edilmiştir (P<0,05). Tüm deneme gruplarının lizozim aktivitesi kontrol grubuna kıyasla artarken (P<0,05) B01 be B1 grupları arasında fark oluşmamıştır (P>0,05). Çalışmanın 30.

gününde ise B05 ve B1 grupları benzerlik gösterirken (P>0,05) bunlardan farklı olarak B01 grubu daha düşük olarak tespit edilmiştir (P<0,05). 30. güne benzer şekilde en yüksek lizozim seviyeleri B05 ve B1 gruplarında gözlenmiştir (P<0,05).

4.3.1.4 Myeleperoksidaz aktivitesi

Myeleperoksidaz (MPO) aktivitesinde meydana gelen değişimler Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6 MPO aktivitesi (OD 540)

Gruplar	15. Gün	30. Gün	45. Gün
Kontrol	1,08±0,05^{b}	1,06±0,05^{b}	1,04±0,04^{c}
B01	1,29±0,05^{a}	1,26±0,05^{a}	1,40±0,06^{a}
B05	1,17±0,03^{a}	1,15±0,03^{a}	1,27±0,03^{b}
B1	1,21±0,01^{a}	1,18±0,04^{a}	1,32±0,02^{b}

B01: Beyaz haşhaş 0,1 g/kg; B05: Beyaz haşhaş 0,5 g/kg; B1: Beyaz haşhaş 1 g/kg. üstel ifadeler gruplar arsındaki farklılıkları ifade eder (P<0,05).

Myeleperoksidaz aktivitesi çalışmanın tüm örnekleme dönemlerinde tüm deneme gruplarında kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir (P<0,05). 15 ve 30 günlerde deneme gruplarının kendi içlerinde farklılık oluşmazken (P>0,05) bundan farklı olarak çalışma sonunda en yüksek değer B01 grubunda tespit edilmiştir (P<0,05).

4.3.1.5 Total protein

Total proteinde meydana gelen değişimler Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.7 Total protein (g/dl)

Gruplar	15. Gün	30. Gün	45. Gün
Kontrol	4,03±0,02^{c}	3,94±0,02^{c}	3,87±0,02^{c}
B01	6,26±0,10^{a}	6,14±0,09^{ab}	6,82±0,10^{a}
B05	5,61±0,22^{b}	5,50±0,22^{b}	6,12±0,24^{b}
B1	6,66±0,26^{a}	6,53±0,25^{a}	7,26±0,28^{a}

B01: Beyaz haşhaş 0,1 g/kg; B05: Beyaz haşhaş 0,5 g/kg; B1: Beyaz haşhaş 1 g/kg. üstel ifadeler gruplar arsındaki farklılıkları ifade eder (P<0,05).

Total protein seviyeleri tüm örnekleme dönemlerinde tüm deneme gruplarında kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir (P<0,05).

4.3.1.6 İmmunoglobulin-M

İmmunoglobulin M'de (IgM) meydana gelen değişimler Tablo 4.8'te verilmiştir.

Tablo 4.8 IgM (g/dl)

Gruplar	15. Gün	30. Gün	45. Gün
Kontrol	1,46±0,09^{c}	1,43±0,09^{c}	1,40±0,09^{c}
B01	2,34±0,06^{b}	2,29±0,06^{b}	2,55±0,07^{b}
B05	2,57±0,05^{ab}	2,52±0,05^{ab}	2,80±0,06^{ab}
B1	2,80±0,12^{a}	2,74±0,11^{a}	3,05±0,13^{a}

B01: Beyaz haşhaş 0,1 g/kg; B05: Beyaz haşhaş 0,5 g/kg; B1: Beyaz haşhaş 1 g/kg. üstel ifadeler gruplar arsındaki farklılıkları ifade eder (P<0,05).

IgM seviyeleri total protein seviyelerinde olduğu gibi tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla yüksek tespit edilmiştir (P<0,01). Buna ek olarak grupların kendi içlerinde farklılıklar tüm örnekleme dönemlerinde benzerlik göstermiştir. Buna göre 15. gün en yüksek IgM oranı B1 grubunda sonrasında B05 grubunda ve sonrasında B01 grubunda gözlenmiştir. Bu sonuçlar diğer örnekleme dönemleri içinde geçerlidir.

4.3.1.7 Antiproteaz aktivitesi

Antiproteaz aktivitesinde meydana gelen değişimler Tablo 4.9'te verilmiştir.

Tablo 4.9 Anti-proteaz aktivitesi (%)

Gruplar	15. Gün	30. Gün	45. Gün
Kontrol	69,50±1,19	68,11±1,17	66,75±1,14^{b}
B01	72,25±1,75	70,81±1,72	78,74±1,91^{a}
B05	70,92±1,15	69,50±1,13	77,29±1,25^{a}
B1	69,27±2,58	67,88±2,52	75,48±2,81^{a}

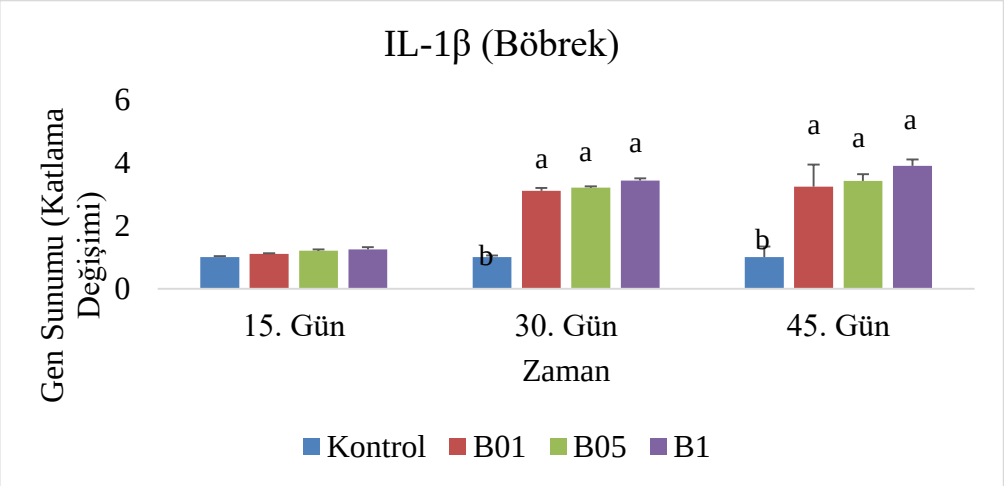
B01: Beyaz haşhaş 0,1 g/kg; B05: Beyaz haşhaş 0,5 g/kg; B1: Beyaz haşhaş 1 g/kg. üstel ifadeler gruplar arsındaki farklılıkları ifade eder (P<0,05).

Anti-proteaz aktivitesi çalışmanın 15 ve 30. günlerinde gruplara arasında farklılık oluşturmazken bundan farklı olarak çalışma sonunda tüm grupların anti-proteaz

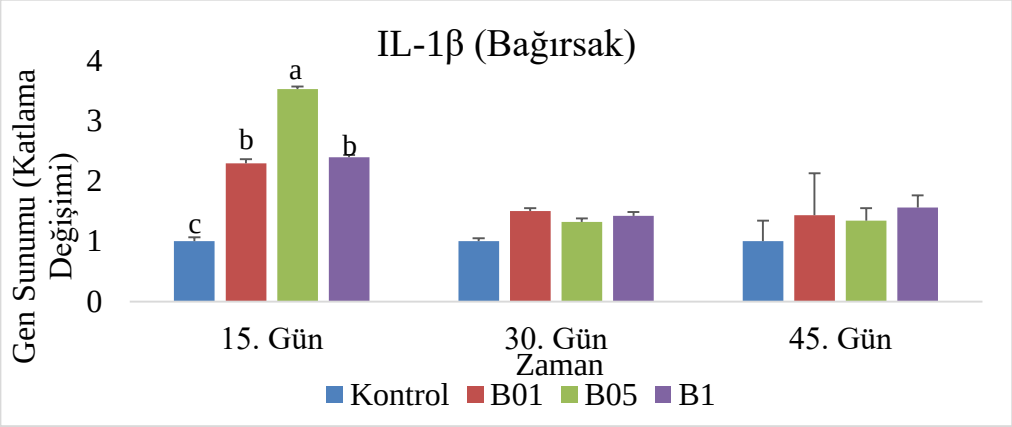
aktivitesi kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir (P<0,05). Tüm grupların anti-proteaz aktivitesi kontrol grubundan yüksekken bundan farklı olarak deneme grupları arasın bir farklılık tespit edilememiştir.

4.3.2 Gen Sunumları

Çalışma sonunda örnekleme dönmelerinde böbrek ve bağırsak dokularından elde edilen gen sunumları IL-1β gen sunumları Şekil 1 ve 2'de verilmiştir.



Şekil 4.1 Beyaz Haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının böbrek dokularında IL-1β gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder.

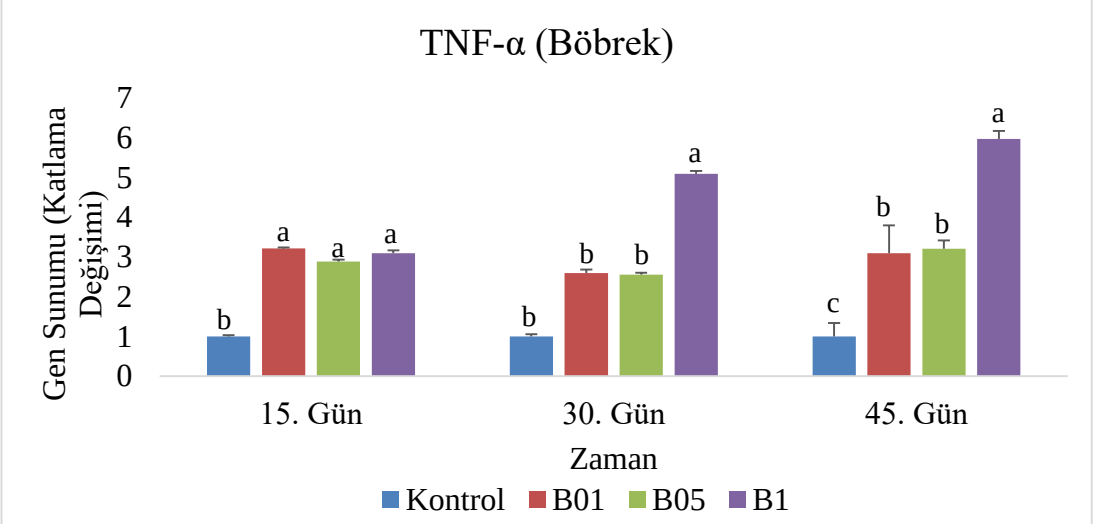


Şekil 4.2 Beyaz Haşhaş (Papaver somniferum L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının bağırsak dokularında IL-1β gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günü aralarındaki farklılığı ifade eder.

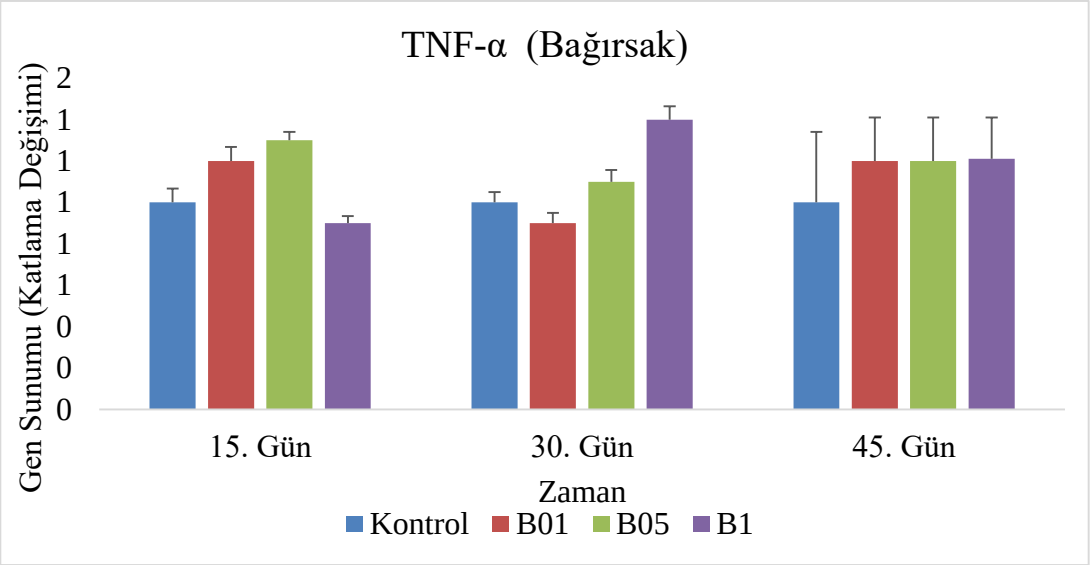
Böbrekte, IL-1β gen sunumu 15. günde gruplar arasında farklılık oluşturmazken hem 30. günde hem de çalışma sonunda tüm grupların IL-1β gen sunumu kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir (P<0,05).

Bağırsakta, IL-1β gen sunumu 15. Günde tüm deneme gruplarında kontrol grubuna kıyasla artış gösterirken bundan farklı olarak 30 ve 45. günlerde bir farklılık ortaya çıkmamıştır (P<0,05).

TNF- α gen sunumları Şekil 3 ve 4'te verilmiştir. Buna göre tüm grupların TNF-α gen sunumları kontrol grubuna kıyasla böbrek dokularında tüm örnekleme dönemlerinde artış göstermiştir (P<0,05). Bundan farklı olarak bağırsak dokularında gruplar arasında bir farklılık hiçbir örnekleme döneminde tespit edilememiştir (P>0,05).

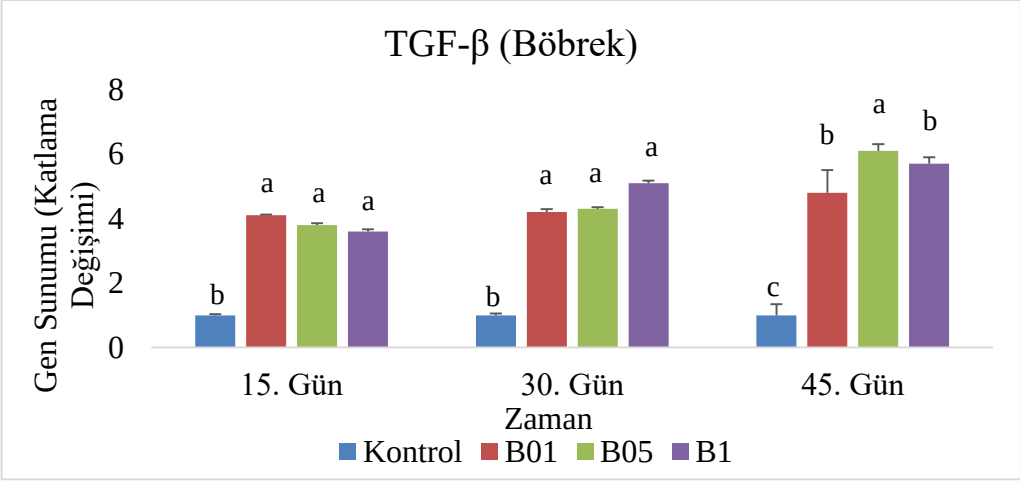


Şekil 4.3 Beyaz haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının böbrek dokularında TNF-α gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günü aralarındaki farklılığı ifade eder.

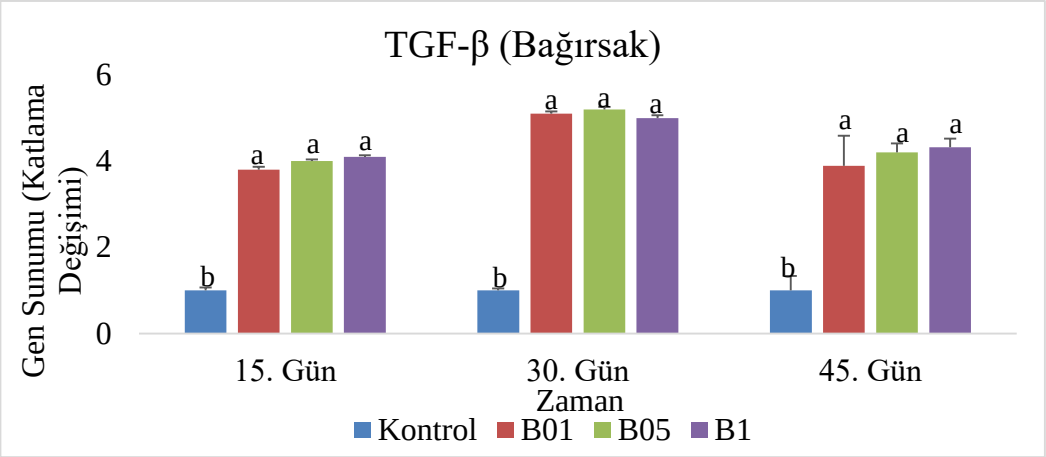


Şekil 4.4 Beyaz haşhaş *(Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının bağırsak dokularında TNF-α gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günü aralarındaki farklılığı ifade eder.

TGF-β gen sunumları Şekil 5 ve 6'da verilmiştir. Buna göre tüm grupların böbrek dokularındaki TGF-β gen sunumları kontrol grubuna kıyasla tüm örnekleme dönemlerinde artış göstermiştir (P<0,05). Benzer şekilde bağırsak dokularında da tüm gruplarda tüm örnekleme dönemlerinde gen sunumlarında artış tespit edilmiştir (P<0,05).

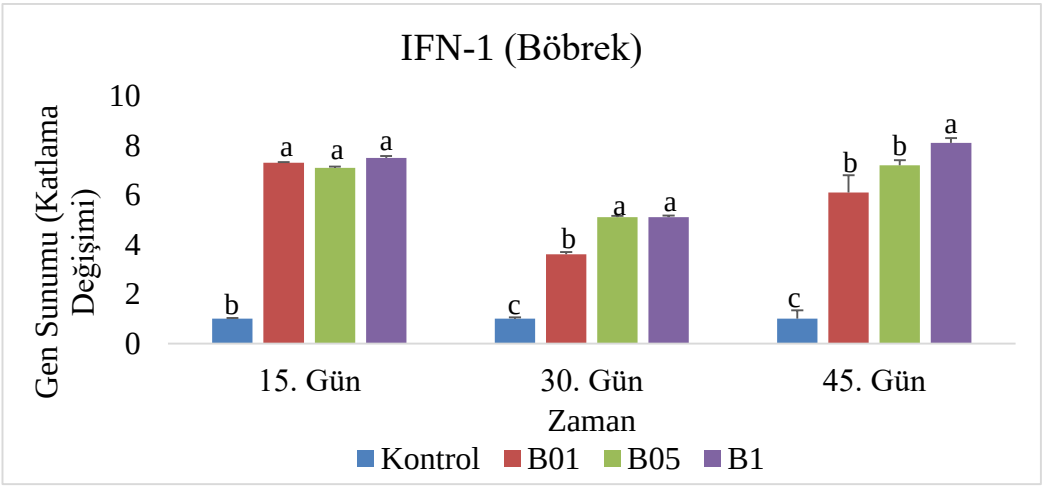


Şekil 4.5 Beyaz haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının böbrek dokularında TGF-β gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günü aralarındaki farklılığı ifade eder.

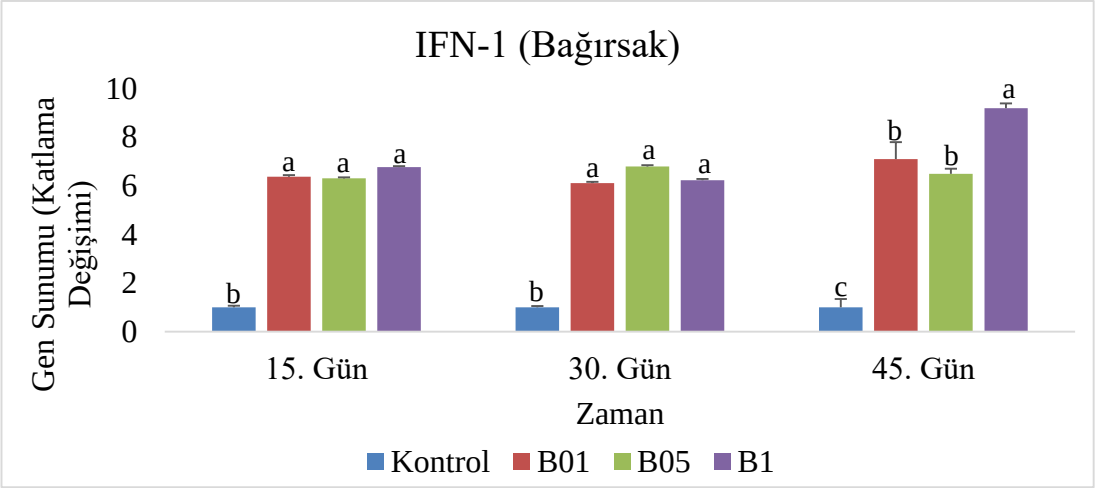


Şekil 4.6 Beyaz haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının bağırsak dokularında TGF-β gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günü aralarındaki farklılığı ifade eder.

IFN-1 gen sunumları Şekil 7 ve 8'de verilmiştir. Buna göre tüm grupların böbrek dokularındaki IFN-1 gen sunumları kontrol grubuna kıyasla tüm örnekleme dönemlerinde artış göstermiştir ($P<0,05$). Benzer şekilde bağırsak dokularında da tüm gruplarda tüm örnekleme dönemlerinde gen sunumlarında artış tespit edilmiştir ($P<0,05$). En yüksen gen sunumu 45. günde bağırsak dokularında B1 grubunda tespit edilmiştir.

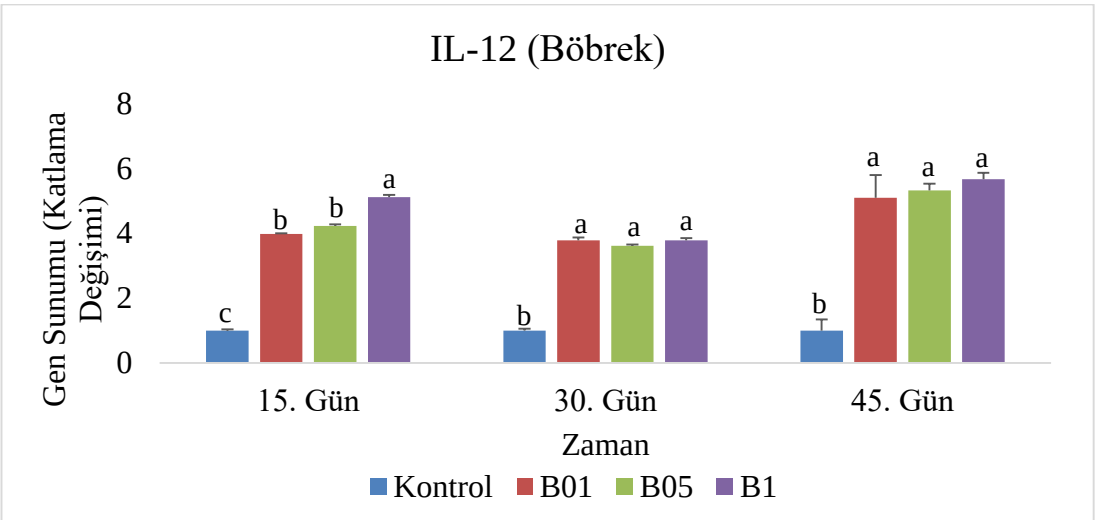


Şekil 4.7 Beyaz haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının böbrek dokularında IFN-1 gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günü aralarındaki farklılığı ifade eder.

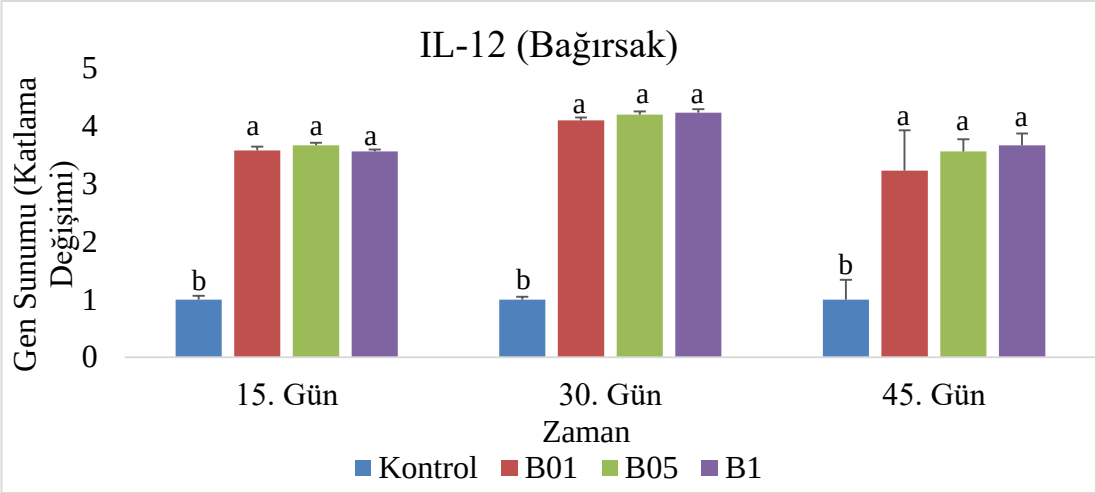


Şekil 4.8 Beyaz haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının bağırsak dokularında IFN-1 gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günü aralarındaki farklılığı ifade eder.

IL-12 gen sunumları Şekil 9 ve 10'da verilmiştir. Buna göre tüm grupların böbrek dokularındaki IL-12 gen sunumları kontrol grubuna kıyasla tüm örnekleme dönemlerinde artış göstermiştir ($P<0,05$). Benzer şekilde bağırsak dokularında da tüm gruplarda tüm örnekleme dönemlerinde gen sunumlarında artış tespit edilmiştir ($P<0,05$). En yüksen gen sunumu 15 ve 45. günde bağırsak dokularında B1 grubunda tespit edilmiştir.



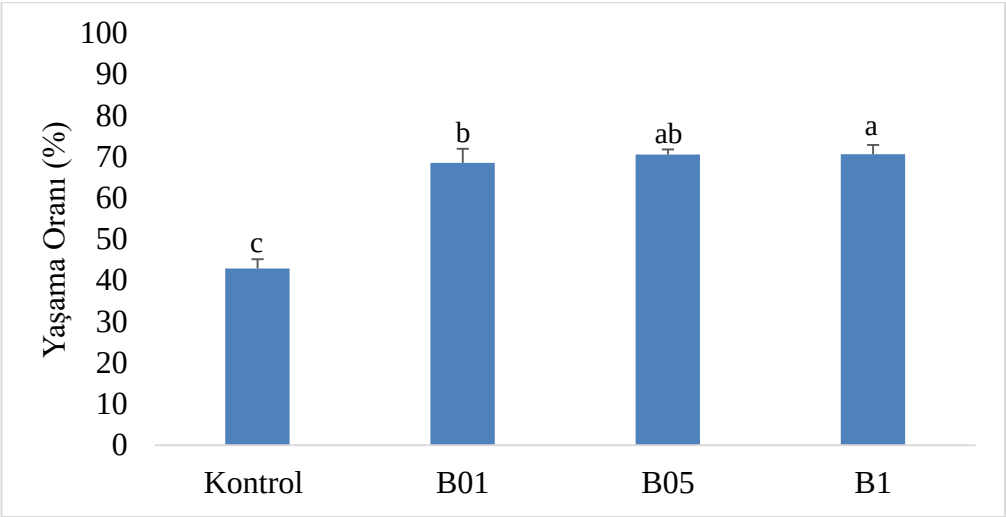
Şekil 4.9 Beyaz haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının böbrek dokularında IL-12 gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günü aralarındaki farklılığı ifade eder.



Şekil 4.10 Beyaz haşhaş (*Papaver somniferum* L.) sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının bağırsak dokularında IL-12 gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günü aralarındaki farklılığı ifade eder.

4.3.3 Yaşama Oranları

Aermonas hydrophila'ya karşı yaşama oranı Şekil 11. 'de belirtildiği üzere en yüksek yaşama oranı B1 grubunda gözlenmiştir. Bununla birlikte tüm grupların yaşama oranları kontrol grubuna kıyasla yüksek olmuştur (P<0,05).



Şekil 4.11 Gökkuşağı alabalıklarının *Aermonas hydrophila*'ya karşı yaşama oranları

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma 45 gün boyunca alabalıklarda uygulanan beyaz haşhaş methanolik özütünün büyüme performansı bağışıklık yanıt ve *Aeromonas hydrophila* patojenine karşı hayatta kalma oranları ortaya konmuştur. Bu sonuçlar nezdinde, balıkların büyüme performanslarının çalışmada kullanılan methanolik özüt ile etkilendiği, bağışlık parametrelerinin olumlu yönde arttığı, sitokin gen sunumlarını kontrol grubuna göre arttığı ve son olarak tüm grupların yaşama oralarında önemli bir artış olduğu tespit edilmiştir.

Yapmış olduğumuz çalışmada beyaz haşhaş uygulanan tüm grupların spesifik büyüme oranlarının (SBO) ve son ağırlıklarının kontrol grubuna kıyasla yükselirken; en yüksek büyüme performansı en yüksek doz beyaz haşhaş grubunda elde edilmiştir. Tüm grupların yem değerlendirme oranları benzerken, sadece B05 grubunda artış gözlenmiştir. Bilen vd. (2020) yapmış oldukları çalışmada *Malva sylvestris* ile besledikleri gökkuşağı alabalıklarının 0,1 g/kg uygulanan balıkların büyüme performanslarını olumlu yönde arttırdığını tespit etmişlerdir. Çalışmamıza benzer olarak, Bilen vd. (2020), yapmış oldukları bir diğer çalışmada ise melisa (*Melissa officinalis*) sulu methanolik özütü ile 75 gün besledikleri gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) ağırlık artışı ve spesifik büyüme oranının 0,5 ve 1 g/kg melisa özütü içeren yemlerle beslenen gruplarda önemli ölçüde arttığının tespit etmişlerdir. Elbesthi vd., (2020), yaptıkları çalışmada, sinirli otu (*Plantago lanceolata*) sulu methanolik özütü ile gökkuşağı alabalıklarını (*Oncorhynchus mykiss*) 90 gün boyunca beslemişler ve ağırlık artışı ve spesifik büyüme hızının tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde arttığını belirtmişlerdir. Almabrok vd, (2018) sazan balıklarına ıhlamur sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslemişler ve balıkların SBO'nın %0,01 ve %0,1 gruplarında önemli ölçüde arttığını tespit etmişelerdir. FCR yine %0,05 ve %0,1 gruplarında önemli ölçüde azalmıştır. Mohamed vd. (2018), *Apium graveolens* sulu methanolik özütü içeren yemlerle sazanları (*Cyprinus carpio*) 45 gün beslemişler, ağırlık artışı ve spesifik büyüme hızının %0,1 grubunda diğer gruplara göre önemli ölçüde arttığını belirtmişlerdir. Yem değerlendirme oranı, kontrol ile karşılaştırıldığında %0,1 ve %1 gruplarında azalmıştır. Bilen vd., (2019) yaptıkları çalışmada, çipura (*Sparus aurata*) ve Avrupa levreklerinde (*Dicentrachus labrax*)

ebegümeci (*Malva sylvestris*) sulu metanolik özütlerinin balıkların büyüme performansını olumlu yönde etkilediğini tespit etmişlerdir. Amhamed vd. (2018), *Chenopodium album* sulu methanolik özütü takviyesinin, sazan balıklarında (*Cyprinus carpio*) denedikleri çalışmalarında, FCR gruplar arasında farklılık göstermezken SGR 0,1 ve 1 g/kg gruplarında artış göstermiştir. Rashidian vd., (2021), *Origanum vulgare* ekstraktının SBO 'nını arttırdığını ve FCR 'ı düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Farsani vd. (2019), kişniş tohumu ekstraktının (*Coriandrum sativum*) gökkuşağı alabalığı *Oncorhynchus mykiss*'in büyüme performansını arttırdığını tespit etmiştir. Çalışmamızdan farklı olarak, Terzi vd. (2021), gökkuşağı alabalıklarını (*Oncorhynchus mykiss*) üryani eriği (*Prunus domestica*) sulu methanolik özütü içeren yemlerle 21 gün boyunca beslemişler ve balıkların büyüme performanslarında bir değişim kaydetmemişlerdir.

Bu çalışmada balıkların amilaz, lipaz ve pepsin aktivitelerinde hiçbir grupta farklılık görülmezken ($P>0,05$); lipaz aktivitesi B1 grubunda yükselmiştir ($P<0,05$).

Lipaz genel olarak trigliseritler (TG'ler), fosfolipidler, kolesteril esterler ve vitamin esterleri gibi substratlardaki ester bağlarının hidrolizini katalize eden enzim olarak tanımlanabilir (Wong ve Schotz, 2002). Bu çalışma sonuçları lipaz aktivitesinin B1 grubunda arttığını göstermiştir. Artan özüt lipaz aktivitesini de arttırarak teorik olarak yemde kullanılan yağların balık büyümesinde olumlu yönde kullanıldığına işaret etmiştir. Çalışmamıza benzer olarak, Bilen vd. (2020), yapmış oldukları çalışmada melisa (*Melissa officinalis*) sulu methanolik özütü ile 75 gün besledikleri gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) lipaz tüm gruplarda önemli derecede artmıştır. Almabrok vd. (2018); sazan balıklarını ıhlamur sulu methanolik özütü ile 45 gün boyunca beslemişler ve lipaz aktivitesinde bir değişiklik tespit edememişlerdir. Mohamed vd. (2018), *Apium graveolens* sulu methanolik özütü içeren yemlerle sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarını 45 gün beslemişler ve lipaz aktivitesinin arttığını tespit etmişlerdir. Amhamed vd. (2018), *Chenopodium album* sulu methanolik özütü takviyesinin, sazan balıklarında (*Cyprinus carpio*) lipaz aktivitesini arttırdığını belirtmişlerdir. Bilen vd. (2018) dereotu (*Anethum graveolens*) ve tere (*Lepidium sativum*) ile besledikleri sazanlarda lipaz aktivitesinde değişim tespit edememişlerdir.

Temel sindirim enzimleri olarak pepsinler, balık yemlerinde protein sindiriminde en belirgin şekilde yer alır ve enzimlerinin seviyeleri balığın yaşı gibi farklı faktörlerden

etkilenebilir (Il'ina ve Turetskiy (1987); Kuzmina (1991)). Bu çalışma sonuçlarına göre beyaz haşhaş özütü ile beslenen balıkların pepsin aktivitelerinde bir değişim gözlenmemiştir. Bununla birlikte balıkların küçük olması ve alabalıkların yavru boylarında proteinden değil de yağdan yem değerlendirme ve büyüme performansları daha yüksek olması sebebiyle büyüme performansında değişiklik olurken pepsin ile ilgili olarak bu değişikliğin gözlenmemesi, çalışmamızı desteklemededir. Bununla birlikte, Bilen vd. (2020), yapmış oldukları çalışmada melisa (*Melissa officinalis*) sulu methanolik özütü ile 75 gün besledikleri gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) pepsin aktivitesi, kontrol ile karşılaştırıldığında 0,5 ve 1 g/kg gruplarında yükseldiğini tespit etmişlerdir.

Tripsin, serin endoproteaz olarak bilinir ve arginin ve lisin amino asit kalıntılarının karboksilik ucundaki peptit bağlarını hidrolize eder (Kennedy ve He, 2005). Bu çalışmada, gökkuşağı alabalıklarının tripsin aktivitelerinde örnekleme esnasında bir değişim tespit edilememiştir. Buradan hareketle, BM özütünün tripsin aktivitesi üzerinde etkisi olmadığı söylenebilir. Çalışmamızdan farklı olarak Bilen vd. (2020) yapmış oldukları çalışmada melisa (*Melissa officinalis*) sulu methanolik özütü ile 75 gün besledikleri gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) tripsin artışı 1g/kg grubunda tespit edilmiştir. Mohamed vd. (2018), *Apium graveolens* sulu methanolik özütü içeren yemlerle besledikleri sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarında 45 gün sonunda tripsin aktivitesi artmış tespit etmişlerdir. Amhamed vd. (2018), *Chenopodium album* sulu methanolik özütü takviyesinin, sazan balıklarında (*Cyprinus carpio*) tripsin aktivitesini arttırdığını tespit etmişlerdir.

Amilaz enzimi, yaygın olarak balık bağırsak mikro-florasında arasında simbiyotik bir ilişki gösterir ve bağırsak yollarında dağılım gösterirken nişastanın sindiriminde önemli bir rol oynar (Sugita vd., 1997). Bu çalışmada libastan farklı olarak ve diğer enzimlerle benzer olarak balıkların amilaz aktivitelerinde bir değişim gözlenmemiştir. Çalışmamıza benzer olarak, Almabrok vd. (2018) sazan balıklarını ıhlamur sulu methanolik özütü 45 gün boyunca beslemişler ve amilaz aktivitesinde bir farklılık tespit edememişlerdir. Çalışmamızdan farklı olarak Mohamed vd., (2018), *Apium graveolens* sulu methanolik özütü içeren yemlerle sazanları (*Cyprinus carpio*) 45 gün beslemişler amilaz enziminde artış tespit etmişlerdir. Amhamed vd., (2018), *Chenopodium album* sulu methanolik özütü takviyesinin, sazan balığının (*Cyprinus*

carpio) amilaz aktivitesinin arttırdığını tespit etmişlerdir. Bilen vd. (2018) dereotu (*Anethum graveolens*) ile besledikleri sazanlarda da amilaz aktivitesinde artış tespit etmişlerdir.

Balıklarda oksidatif radikal salınımları özellikle lökositlerden, nötrofil, monosit, makrofaj, dentritik hücreler ve B-lenfositleri tarafından bağışıklık sistemin bir yanıtı olarak patojenlerin imhası sırasında üretilmektedir. Bu çalışmada ise oksidatif radikal salınımları 15 ve 30. günde benzerlik gösterirken deneme sonunda sadece B1 grubunda artış göstermiştir. Genel olarak bakıldığında beyaz haşhaş kullanımının oksidatif radikal üretimini çalışma sonunda en yüksek dozda arttırdığı söylenebilir. Bu bağlamda, fagositik aktivite ile alakalı olan ORS'nin sadece B1 gruplarında fagositik yönden aktiviteye neden olduğu ifade edilebilir. Önceki çalışmalarda Bilen vd. (2020), yapmış oldukları çalışmada *Malva sylvestris* ile besledikleri gökkuşağı alabalıklarının oksidatif radikal üretimini artırdığını tespit etmişlerdir. Bilen vd. (2020), yapmış oldukları çalışmada melisa (*Melissa officinalis*) sulu methanolik özütü ile 75 gün besledikleri gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) oksidatif radikal üretiminin 1 g/kg gruplarında arttığını tespit etmişlerdir. Elbesthi vd. (2020), yaptıkları çalışmada, sinirli otu (*Plantago lanceolata*) sulu methanolik özütü ile gökkuşağı alabalıklarını (*Oncorhynchus mykiss*) 90 gün boyunca beslemişler ve oksidatif radikal salınımlarının artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Christybapita vd. (2007) tilapia balıklarında (*Oreochromis mossambicus*) yaptıkları çalışmada *Eclipta alba* yaprağı özütünü ile balıkları 3 hafta beslemişler ve çalışma sonunda oksidatif radikal salınımların artış tespit etmişlerdir. Almabrok vd. (2018) sazan balıklarını özütü ile beslemişler ve oksidatif radikal salınımlarında 15 ve 30. günlerde artış tespit etmişlerdir. Mohamed vd. (2018), *Apium graveolens* sulu methanolik özütü içeren yemlerle sazanları beslemişler ve oksidatif radikal salınımları tüm gruplarda artış göstermiştir. Bilen vd. (2021) gökkuşağı alabalıklarını yüksek ardıç (*Juniperus excelsa*) sulu methanolik özütünü 0 (Kontrol), 1, 4 ve 8 mg/kg/balık dozu ile oral olarak 14 gün boyunca uyguladıkları çalışma sonunda tüm deneme gruplarında artan bir oksidatif radikal salınımını tespit etmişlerdir. Yine Bilen vd. (2019) yaptıkları çalışmada, çipura levreklerde tetra (*Cotinus coggygria*) ve ebegümeci (*Malva sylvestris*) sulu metanolik özütü uygulamasının çalışmamıza benzer olarak oksidatif radikal salınımlarında artış tespit etmişlerdir. Amhamed vd., (2018), *Chenopodium*

album sulu metanolik özütü takviyesinin, sazan balığının (*Cyprinus carpio*) yaptıkları çalışmada oksidatif radikal salınımlarında artış tespit etmişlerdir.

Potansiyel öldürme aktivitesi çalışma grupların deneme gruplarında kendi içlerinde farklı dönmelerde farklılık gösterse de kontrol grubu ile kıyaslandığında tüm grupların daha yüksek değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir. En yüksek değerler yine B1 grubunda tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar Bilen vd. (2019) levrek çipura balıklarında tetra ve ebegümeci uygulamaları sonrasında elde edilmiştir.

Lizozim, mikrobiyal istilaya karşı korumaya aracılık etmede önemli olan, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin önemli bir savunma molekülüdür. Lökosit kökenli mukolitik bir enzimdir (Jolles ve Jolles 1984) ve ayrıca mukus ve tükürük gibi çok çeşitli hayvan salgılarında, kan dahil birçok dokuda ve bitkilerin hücre vakuollerinde bulunur. Bu çalışmada balıkların lizozim aktiviteleri tüm gruplarda tüm örnekleme zamanlarında artış göstermiştir. Bu sonuçlar lizozim aktivitesin beyaz haşhaş uygulanan gruplarda arttığının ve bağışıklık yanıtların olumlu etkilendiklerinin kanıtıdır. Çalışmamıza benzer olarak Bilen vd. (2020), yapmış oldukları çalışmada melisa (*Melissa officinalis*) sulu methanolik özütü ile 75 gün besledikleri gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) lizozim aktivitesin 1 g/kg gruplarında arttığını tespit etmişlerdir. Christybapita vd. (2007), tilapia balıklarında (*Oreochromis mossambicus*) yaptıkları çalışmada lizozim aktivitelerinde artış tespit etmişlerdir. Elbesthi vd., (2020), yaptıkları çalışmada, sinirli otu (*Plantago lanceolata*) sulu methanolik özütü ile gökkuşağı alabalıklarını (*Oncorhynchus mykiss*) 90 gün boyunca beslemişler ve lizozim aktivitelerinde artış tespit etmişlerdir. Çalışmamızdan farklı olarak Bilen vd. (2020), yapmış oldukları araştırmada *Malva sylvestris* ile besledikleri gökkuşağı alabalıklarının lizozim aktivitelerinde bir değişim gözlemlememişlerdir. Almabrok vd. (2018) sazan balıklarını ıhlamur sulu methanolik özütünün sazanlarda lizozim aktivitesini arttırdığını tespit etmişlerdir. Bilen vd. (2021) gökkuşağı alabalıklarını yüksek ardıç (*Juniperus excelsa*) özütünün 1 ve 4 mg uygulama yapılan gruplarda lizozimi arttırdığını tespit etmişlerdir. Bilen vd., (2019) yaptıkları çalışmada, çipura levreklerde tetra (*Cotinus coggygria*) ve ebegümeci (*Malva sylvestris*) sulu methanolik özütü uygulamasının çalışmamıza benzer olarak artış tespit etmişlerdir. Amhamed vd., (2018), *Chenopodium album* sulu methanolik özütü takviyesinin, sazan

balığının (*Cyprinus carpio*) yaptıkları çalışmada lizozim doza bağımlı artış göstermiştir.

Nötrofiller, genel olarak toplam hücre proteininin yaklaşık %5'ini ve granül proteinin %25'ini oluşturan miyeloperoksidaz (MPO) enzimini bol miktarda içerir (Segal, 2005). MPO, bazılarının mikroorganizmalar için toksik olduğu bildirilen birkaç substratı oksidaz etmek için hidrojen peroksit kullanır (Klebanoff, 1968; Britigan vd., 1996; Hampton ve diğerleri, 1996). Ek olarak, son çalışmalar MPO'nun nötrofil aktivasyonunun indüklenmesi (Lau vd., 2005) ve makrofajlar gibi diğer hücrelerin uyarılması (Grattendick vd., 2002) dahil olmak üzere daha karmaşık fonksiyonlara sahip olabileceğini ve genel inflamatuar yanıta katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada, deneme gruplarındaki balıkların myeleperoksidaz aktivitesi tüm örnekleme dönemlerinde tüm beyaz haşhaş gruplarında artış göstermiştir. Bu sonuçlar BM uygulamasının balıklarda myeleperoksidaz aktivitelinse artışa neden olduğu ve nötrofillerin uyarıldığının bir kanıtı olarak ifade edilebilir. Çalışmamamıza benzer olarak, Bilen vd. (2020), yapmış oldukları çalışmada *Malva sylvestris* ile besledikleri gökkuşağı alabalıklarının myeleperoksidaz aktivitelerinin arttığını tespit etmişlerdir. Terzi vd., (2021), gökkuşağı alabalıklarını (*Oncorhynchus mykiss*) üryani eriği (*Prunus domestica*) sulu methanolik özütü içeren yemlerle 21 gün boyunca beslemişler ve myeleperoksidaz aktivitesinde 14. günde artışa neden olduğunu tespit etmişlerdir. Mohamed vd. (2018), *Apium graveolens* sulu methanolik özütü içeren yemlerle sazanların (*Cyprinus carpio*) balıkları 45 gün beslemişler ve uygulama yapılan tüm gruplarda myeleperoksidaz aktivitesinde artış tespit etmişlerdir. Mohamed vd., (2018), kereviz özütü ile besledikleri sazanlarda myeleperoksidaz aktivitesinde tüm deneme gruplarında önemi derecede artış tespit etmişlerdir. Bilen vd., (2019) yaptıkları çalışmada, çipura levreklerde tetra (*Cotinus coggygria*) ve ebegümeci (*Malva sylvestris*) sulu methanolik özütü uygulamasının çalışmamıza benzer olarak myeleperoksidaz aktivitesinin arttırdığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızdan farklı olarak Almabrok vd. (2018) sazan balıklarını ıhlamur sulu methanolik özütü 45 gün boyunca beslemişler ve gruplar arasında myeleperoksidaz aktivitesinde hiçbir farklılık tespit edememişlerdir. Bilen vd. (2021) gökkuşağı alabalıklarını yüksek ardıç (*Juniperus excelsa*) özütünü 0 (Kontrol), 1, 4 ve 8

mg/kg/balık dozu ile oral olarak 14 gün boyunca uyguladıkları çalışmada myeleperoksidaz aktivitesi tüm gruplarda azaldığını tespit etmişlerdir.

Çalışma sonundan kontrol grubuna göre tüm grupların total protein değerleri ve buna ek olarak IgM değerleri artış göstermiştir. Bu sonuçlar haşhaş özütünün balıkların bağışıklık yanıtları ve antikor seviyelerinde artışa neden olduğunu ifade etmektedir. Çalışmamız benzer olarak Arslan (2021) gökkuşağı alabalıklarında *Raphanus sativus* küspe özütü denemeleri sonucunda total protein ve IgM miktarlarını arttırdığını tespit etmiştir.

Anti-proteaz aktivitesi tüm gruplarda sadece çalışma sonunda artış göstermiştir. Anti-proteaz bakıldığında sadece çalışma sonunda deneme gruplarında artış gözlenmiştir. Çalışmamıza benzer olarak Arslan (2021) ise gökkuşağı alabalıklarında denediği *Raphanus sativus* küspe özütünün anti-proteaz aktivitesini arttırdığını belirtmiştir.

Balıkların sitokin yanıtları değerlendirildiğinde; IL-1β, böbrek dokularında tüm gruplarda artmış bağırsakta ise sadece çalışma başlangıcında artış gözlenmiştir. Son iki örnekleme döneminde değişim olmamıştır. IL-1β En önemli proinflamatuar sitokinlerden biridir (Zou ve Secombes 2016). Gökkuşağı alabalığında artan IL-1β gen ekspresyonu siklopamine maruz kaldıktan sonra lökositler tespit edildiği belirtilmiştir (Sönmez vd., 2018). IL-1β gen ekspresyonu da Rafinoz ile beslenen *Cyprinus carpio*'da (Karimi vd., 2020); *Usnea barbata* ve tetra ile muamele edilmiş gökkuşağı alabalığında yükselmiştir (Bilen vd., 2019d; Bilen ve Elbeshti, 2019)

TNF-α bir proinflamatuar sitokin olup, böbreklere tüm örnekleme dönemlerinde en çok B1 grubunda artış gösterirken; bağırsakta hiçbir örnekleme döneminde değişim göstermemiştir. TNF-α'nın sitokin ve inflamasyon üzerinde, bakterilere karşı savunma, hücre apoptozisi ve farklılaşmada önemli rolü vardır (Ware, 2003). TNF-α esas olarak böbrek dokularında salgılanmaktadır. Çalışmamızda böbrek dokularında artan TNF-α sunumları bu bağlamda desteklenmektedir. Çalışılmamıza benzer olarak Arslan (2021) *R. sativa* ile besledikleri alabalıklarda böbrek dokularında artan bir gen sunumu tespit etmiştir. Benzer bir artmış *Mentha longifolia* uygulanan alabalıkalrda da tespit edilmiştir (Heydari vd., 2020).

TGF-β tüm örnekleme dönemlerinde hem bağırsak hem de böbrek dokularında artış göstermiştir. TGF-β, TNF-α'nın nitrik oksit tepkisini önleyebilen makrofajları aktive eden ve ayrıca LPS'i inhibe eden bir sitokinde gendir (Haddad vd., 2008).

IFN-1 hem böbrek hem de bağırsak dokularında artış göstermiştir. İnterferonlar genellikle savunmadan sorumludurlar (Ooi vd., 2008). Çalışamamıza benzer olarak Küçükgül ve Gülşafak (2019) kavrakrol ilavesinin hem IFN-1 hem de IFN-2 genlerinin balıkların böbrek ve bağırsaklarda arttığını belirtmişlerdir.

IL-12 Doğal öldürücü hücrelerde B ve T hücrelerinde IFN-y üretimini düzenleyen bir heterodimerik sitokindir (Wang vd., 2014). Ayrıca IL-12, Th1 ve Th2'yi dayalı bağışıklık tepkisini aktive eder (Wangkahart vd., 2019). Bu çalışmada; her örnekleme döneminde IL-12 hem bağırsak hem de böbrek dokularında artış göstermiştir. Bu bağlamda beyaz haşhaş kullanımının IL-12 gen sunumu ile ilgili olarak bağışıklık yanıtları olumlu etkilediği ifade edilebilir. Tüm bu sonuçlara ek olarak Bilen vd. (2020), yapmış oldukları çalışmada *Malva sylvestris* ile besledikleri gökkuşağı alabalıklarının IL-1β, TNF-α1, IL-8, IL-10, TGF-β ve IL-12 sitokinlerinin genellikle düştüğünü ya da değişmediğini tespit etmişlerdir. Bilen vd. (2019) sakal likeni (*Usnea barbata*) sulu metanolik özütünün gökkuşağı alabalığında (*Onchorhynchus mykiss*) tüm deneme gruplarında IL-8, TGF-β, IL-12 β, TNF-α1, IL-10, COX-2, IL-6, TLR5, C3, IGM, MHC-II, iNOS, IgT, IFN1, IFN2, IFN reg gen sunumlarının kontrol grubuna kıyasla yükseldiğini tespit etmişlerdir. Terzi vd., (2021), gökkuşağı alabalıklarını (*Oncorhynchus mykiss*) üryani eriği (*Prunus domestica*) sulu methanolik özütü içeren yemlerle 21 gün boyunca beslemişler, gen sunumlarına IL-1β ve COX-2 yükseldiğini belirtmişlerdir. Bilen vd., (2021) gökkuşağı alabalıklarını yüksek ardıç (*Juniperus excelsa*) sulu methanolik özütünü 0 (Kontrol), 1, 4 ve 8 mg/kg/balık dozu ile oral olarak 14 gün boyunca uyguladıkları çalışmada IL-1β çalışmanın yedinci gününde tüm gruplarda artış göstermiştir. IL-8, çalışmanın 7. gününde 4 ve 8 mg/kg/balık gruplarındaki IL-12 gen ekspresyonu 8mg/kg/balık grubunda ve 14. Günde ise 4mg/kg/balık grubunda artış göstermiştir.

Balıkların hayatta kalma oranları değerlendirildiğinde tüm grupların yaşama oranı kayda değer artmıştır. Çalışmamızda en yüksek yaşama oranı B1'de görülmüştür. Bilen vd. (2020), yapmış oldukları çalışmada *Malva sylvestris* ile besledikleri gökkuşağı alabalıklarının *A. hydrophila* ile yaptıkları çalışmada balıkların düşük

dozlarda yüksek yaşama oranı tespit etmişlerdir. *E. alba* sulu yaprak özütü ile beslenen tilapia balıklarının *A. hydrophila*'ya karşı yaşam oranını arttırdığı tespit edilmiştir (Christybapita vd., (2007). Bilen vd., 2019; sakal likeni (*Usnea barbata*) sulu metanolik özütünün gökkuşağı alabalığında (*Onchorhynchus mykiss*), *Lactococcus garvieae* enfeksiyonuna karşı yaşama oranını arttırdığını tespit etmişlerdir. Terzi vd., (2021), gökkuşağı alabalıklarını (*Oncorhynchus mykiss*) üryani eriği (*Prunus domestica*) sulu methanolik özütü içeren yemlerle 21 gün boyunca beslemişler ve *Yersinia ruckeri* enfeksiyonuna karşı yaşama oranlarında artış tespit etmişlerdir. Bilen vd., (2021), gökkuşağı alabalıklarını yüksek ardıç (*Juniperus excelsa*) sulu methanolik özütünü 0 (Kontrol), 1, 4 ve 8 mg/kg/balık dozu ile oral olarak 14 gün boyunca uyguladıkları çalışmada *Yersinia ruckeri* enfeksiyonuna karşı 8 mg/kg grubunda yaşama oranında artış tespit etmişlerdir. Rashidian vd., (2021), *Origanum vulgare* ekstraktının *Aeromonas hydrophila*'ya karşı direnci arttırdığını tespit etmişlerdir. Tan vd., (2017), *Trachinotus ovatus*'ta alıç ekstraktının *Vibrio harveyi* 'ye karşı direnci arttırdığını belirtmişlerdir. Farsani vd. (2019), kişniş tohumu ekstraktının (*Coriandrum sativum*) gökkuşağı alabalığı *Oncorhynchus mykiss*'in *Y. ruckeri* 'ye karşı direnci arttırdığını tespit etmiştir.

Sonuç olarak tüm bu veriler değerlendirildiğinde beyaz haşhaş methanolik özütünün alabalık yemlerine 1 g/kg oranında konulması ile balıkların büyüme performansları ve bağışıklık yanıtların olumlu etki edeceği tespit edilmiştir. Aynı zamanda balıkların özellikle *Aeromonas hydrophila* olmak üzere diğer patojenlere karşı hasta olma ya da hastalık sonucu kayıp oluşma olasılıklarının son derece düşeceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

Ahilan B, Nithiyapriyatharshini A, Ravaneshwaran K (2010) Influence of certain herbal additives on the growth, survival and disease resistance of goldfish, *Carassius auratus* (Linnaeus). Tamilnadu J Vet Anim Sci 6:5–11

Ahmed, A. A. (2000). Highly oxygenated monoterpenes from *Chenopodium ambrosioides*. Journal of natural products, 63(7), 989-991.

Almabrok, A. A., Amhamed, I. D., Mohamed, G. A., Bilen, S., & Altief, T. A. S. (2018). Effect of Tilia tomentosa methanolic extract on growth performance, digestive enzyme activity, immune response and haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio*). Marine Science and Technology Bulletin, 7(1), 12-20.

Altunoglu, Y. C., Bilen, S., Ulu, F., & Biswas, G. (2017). Immune responses to methanolic extract of black cumin (*Nigella sativa*) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and shellfish immunology, 67, 103-109.

Amhamed, I. D., Mohamed, G. A., Almabrok, A. A., Altief, T. A. S., & Bilen, S. (2018). Efficacy of dietary *Chenopodium album* extract on some health parameters, digestive enzymes and growth performance in juvenile *Cyprinus carpio*. Alinteri Journal of Agriculture Science, 33(2), 165-176.

Bilen, S., & Bulut, M. (2010). Effects of laurel (*Laurus nobilis*) on the non-specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Journal of Animal and Veterinary Advances, 9(8), 1275-1279.

Bilen, S., & Elbeshti, H. T. A. G. (2019). A new potential therapeutic remedy against *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using tetra, *Cotinus coggygria*. Journal of fish diseases, 42(10), 1369-1381.

Bilen, S., Ali, G. A. M., Amhamed, I. D., & Almabrok, A. A. (2021). Modulatory effects of laurel-leaf cistus (*Cistus laurifolius*) ethanolic extract on innate immune responses and disease resistance in common carp (*Cyprinus carpio*). Fish and Shellfish Immunology.

Bilen, S., Altief, T. A. S., Özdemir, K. Y., Salem, M. O. A., Terzi, E., & Güney, K. (2020). Effect of lemon balm (*Melissa officinalis*) extract on growth performance, digestive and antioxidant enzyme activities, and immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish physiology and biochemistry, 46(1), 471-481.

Bilen, S., Altief, T. A. S., Özdemir, K. Y., Salem, M. O. A., Terzi, E., & Güney, K. (2020). Effect of lemon balm (*Melissa officinalis*) extract on growth performance, digestive and antioxidant enzyme activities, and immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish physiology and biochemistry, 46(1), 471-481.

Bilen, S., Altief, T. A. S., Özdemir, K. Y., Salem, M. O. A., Terzi, E., & Güney, K. (2020). Effect of lemon balm (*Melissa officinalis*) extract on growth performance, digestive and antioxidant enzyme activities, and immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish physiology and biochemistry, 46(1), 471-481.

Bilen, S., Altunoglu, Y. C., Ulu, F., & Biswas, G. (2016). Innate immune and growth promoting responses to caper (*Capparis spinosa*) extract in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and shellfish immunology, 57, 206-212.

Bilen, S., Bulut, M., & Bilen, A. M. (2011). Immunostimulant effects of Cotinus coggyria on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and shellfish immunology, 30(2), 451-455.

Bilen, S., Filogh, A. M., Ali, A. B., Kenanoğlu, O. N., & Zoral, M. A. (2020). Effect of common mallow (*Malva sylvestris*) dietary supplementation on growth performance, digestive enzyme activities, haemotological and immune responses of common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture International, 28(1), 73-84.

Bilen, S., Ispir, S., Kenanoglu, O. N., Taştan, Y., Güney, K., & Terzi, E. (2021). Effects of Greek juniper (*Juniperus excelsa*) extract on immune responses and disease resistance against Yersinia ruckeri in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Fish Diseases, 44(6), 729-738.

Bilen, S., Karga, M., Altunoğlu, Y. Ç., Ferhat, ULU., & Biswas, G. (2020). Immune responses and growth performance of the aqueous methanolic extract of malva sylvestris in *Oncorhynchus mykiss*. Marine Science and Technology Bulletin, 9(2), 159-167.

Bilen, S., Kenanoglu, O. N., Terzi, E., Ozdemir, R. C., & Sonmez, A. Y. (2019). Effects of tetra (*Cotinus coggygria*) and common mallow (*Malva sylvestris*) plant extracts on growth performance and immune response in Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*) and European Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture, 512, 734251.

Bilen, S., Kenanoglu, O. N., Terzi, E., Ozdemir, R. C., & Sonmez, A. Y. (2019). Effects of tetra (*Cotinus coggygria*) and common mallow (*Malva sylvestris*) plant extracts on growth performance and immune response in Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*) and European Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture, 512, 734251.

Bilen, S., Özkan, O., Alagöz, K., & Özdemir, K. Y. (2018). Effect of dill (*Anethum graveolens*) and garden cress (*Lepidium sativum*) dietary supplementation on growth performance, digestive enzyme activities and immune responses of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture, 495, 611-616.

Bilen, S., Özkan, O., Alagöz, K., & Özdemir, K. Y. (2018). Effect of dill (*Anethum graveolens*) and garden cress (*Lepidium sativum*) dietary supplementation on growth performance, digestive enzyme activities and immune responses of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture, 495, 611-616.

Bilen, S., Sirtiyah, A. M. A., & Terzi, E. (2019). Therapeutic effects of beard lichen, Usnea barbata extract against *Lactococcus garvieae* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and shellfish immunology, 87, 401-409.

Bilen, S., Soydaş, E., & Bilen, A. M. (2014). Effects of methanolic extracts of nettle (*Urtica dioica*) on non-specific immune response of gold fish (*Carassius auratus*). Alınteri Zirai Bilimler Dergisi, 27, 24-29.

Bilen, S., Ünal, S., & Güvensoy, H. (2016). Effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and nettle (*Urtica dioica*) methanolic extracts on immune responses and resistance to *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 454, 90-94.

Bilen, S., Yılmaz, S., Bilen, A. M., & Biswas, G. (2014). Effects of dietary incorporation of tetra (*Cotinus coggygria*) extract on immune response and resistance to *Aeromonas hydrophila* in koi carp (*Cyprinus carpio*).

Bondad-Reantaso MG, Subasinghe RP, Arthur JR, Ogawa K, Chinabut S, Adlard R, Tan Z, Shariff M (2005) Disease and health management in Asian aquaculture. Vet Parasitol 132:249–272

Britigan, B. E., Ratcliffe, H. R., Buettner, G. R., & Rosen, G. M. (1996). Binding of myeloperoxidase to bacteria: effect on hydroxyl radical formation and susceptibility to oxidant-mediated killing. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 1290(3), 231-240.

Bud I, Boaru MA, Petrescu-Mag IV (2009) Influence of food and age on breeding and reproductive performances in a rainbow trout population. AACL Bioflux 2:239–247

Cabello FC (2006) Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. Environ Microbiol 8:1137–1144

Chakrabarti, R., Srivastava, P. K., Verma, N., & Sharma, J. (2014). Effect of seeds of *Achyranthes aspera* on the immune responses and expression of some immune-related genes in carp *Catla catla*. Fish and shellfish immunology, 41(1), 64-69.

Christybapita, D., Divyagnaneswari, M., & Michael, R. D. (2007). Oral administration of *Eclipta alba* leaf aqueous extract enhances the non-specific immune responses and disease resistance of *Oreochromis mossambicus*. Fish and shellfish immunology, 23(4), 840-852.

Cuesta, A., Ortuño, J., Rodriguez, A., Esteban, M. A., & Meseguer, J. (2002). Changes in some innate defence parameters of seabream (*Sparus aurata* L.) induced by retinol acetate. Fish and shellfish immunology, 13(4), 279-291.

Dorucu M, Colak SO, Ispir U, Altinterim B, Celayir Y (2009) The effect of black cumin seeds, *Nigella sativa*, on the immune response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Mediterr Aquacult J 2:27–33

Elbesthi, R. T. A., Özdemir, K. Y., Taştan, Y., Bilen, S., & Sönmez, A. Y. (2020). Effects of ribwort plantain *(Plantago lanceolata*) extract on blood parameters,

immune response, antioxidant enzyme activities, and growth performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish physiology and biochemistry, 46(4), 1295-1307.

Elbesthi, R. T. A., Özdemir, K. Y., Taştan, Y., Bilen, S., & Sönmez, A. Y. (2020). Effects of ribwort plantain (*Plantago lanceolata*) extract on blood parameters, immune response, antioxidant enzyme activities, and growth performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish physiology and biochemistry, 46(4), 1295-1307.

Ellis A.E., 1990. Lysozyme assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Eschmeyer, W. N. & Paxton, J. (1993). Fische EnzykIopadie der liere, jahr-verlag Hamburg

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Fisheries & Aquaculture Department (2012) The state of world fisheries and aquaculture 2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, London

Farsani, M. N., Hoseinifar, S. H., Rashidian, G., Farsani, H. G., Ashouri, G., & Van Doan, H. (2019). Dietary effects of *Coriandrum sativum* extract on growth performance, physiological and innate immune responses and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Yersinia ruckeri*. Fish and shellfish immunology, 91, 233-240.

Fazlolahzadeh F, Keramati K, Nazifi S, Shirian S & Seifi S (2011) Effect of garlic (*Allium sativum*) on hematological parameters and plasma activities of ALT and AST of rainbow trout in temperature stress. Aust J Basic Appl Sci 5:84–90

Grattendick, K., Stuart, R., Roberts, E., Lincoln, J., Lefkowitz, S. S., Bollen, A., & Lefkowitz, D. L. (2002). Alveolar macrophage activation by myeloperoxidase: a model for exacerbation of lung inflammation. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, 26(6), 716-722.

Hampton, M. B., Kettle, A. J., & Winterbourn, C. C. (1996). Involvement of superoxide and myeloperoxidase in oxygen-dependent killing of *Staphylococcus aureus* by neutrophils. Infection and immunity, 64(9), 3512-3517.

Higgs, D. A., Markert, J. R., MacQuarrie, D. W., McBride, J. R., Dosanjh, B. S., Nichols, C., Hoskins, G. (1979). Development of practical dry diets for Coho Salmon using poultry-by-product meal, feather meal, soybean meal and rapeseed meal as major protein sources. Finfish Nutrition and Fishfeed Technology. Heenemann Verlagsgesellschaft MbH, Berlin, 3-68.

Hoseinifar, S. H., Khodadadian Zou, H., Paknejad, H., Ahmadifar, E., & Van Doan, H. (2018). Non-specific immune responses and intestinal immunity of common carp (*Cyprinus carpio*) fed Jujube (*Ziziphus jujube*) fruit extract. Aquaculture Research, 49(9), 2995-3003.

Il'ina, I. D., & Turetskiy, V. I. (1987). Development of the digestive function in fishes. Vopr. Icthyol, 27, 835-845.

Jollès, P., & Jollès, J. (1984). What's new in lysozyme research. Molecular and cellular biochemistry, 63(2), 165-189.

Kanani, H. G., Nobahar, Z., Kakoolaki, S., & Jafarian, H. (2014). Effect of ginger-and garlic-supplemented diet on growth performance, some hematological parameters and immune responses in juvenile *Huso huso*. Fish physiology and biochemistry, 40(2), 481-490.

Kanlı, E. (2018). Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yumurtalarında alternatif dezenfeksiyon uygulamaları (Doctoral dissertation, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü/Su Ürünleri Anabilim Dalı).

Kennedy, J. F., & He, M. M. (2005). AJ Barrett, ND Rawlings, JF Woessner (Eds.), Handbook of Proteolytic Enzymes, (2 Volumes) Elsevier Academic Press, London, UK, 2004 (2140 pp.,£ 274.95, ISBN 0-12-079610-4).

Kirubakaran, C. J. W., Alexander, C. P., & Michael, R. D. (2010). Enhancement of non-specific immune responses and disease resistance on oral administration of *Nyctanthes arbortristis* seed extract in *Oreochromis mossambicus* (Peters). Aquaculture Research, 41(11), 1630-1639.

Kirubakaran, C. J. W., Subramani, P. A., & Michael, R. D. (2016). Methanol extract of *Nyctanthes arbortristis* seeds enhances non-specific immune responses and protects *Oreochromis mossambicus* (Peters) against *Aeromonas hydrophila* infection. Research in veterinary science, 105, 243-248.

Klebanoff, S. J. (1968). Myeloperoxidase-halide-hydrogen peroxide antibacterial system. Journal of bacteriology, 95(6), 2131-2138.

Kuzmina, V. V. (1991). Evolutionary features of the digestive-transport function in fish. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, 27(2), 127-134.

Laith, A. A., Mazlan, A. G., Effendy, A. W., Ambak, M. A., Nurhafizah, W. W. I., Alia, A. S., Najiah, M. (2017). Effect of *Excoecaria agallocha* on non-specific immune responses and disease resistance of *Oreochromis niloticus* against *Streptococcus agalactiae*. Research in veterinary science, 112, 192-200.

Lau, D., Mollnau, H., Eiserich, J. P., Freeman, B. A., Daiber, A., Gehling, U. M., & Baldus, S. (2005). Myeloperoxidase mediates neutrophil activation by association with CD11b/CD18 integrins. Proceedings of the National Academy of Sciences, 102(2), 431-436.

Lee, P. T., Chen, H. Y., Liao, Z. H., Huang, H. T., Chang, T. C., Huang, C. T., & Nan, F. H. (2020). Effects of three medicinal herbs *Bidens pilosa*, *Lonicera japonica*, and *Cyathula officinalis* on growth and non-specific immune responses of cobia (*Rachycentron canadum*). Fish and Shellfish Immunology, 106, 526-535.

Mohamed, G. A., Amhamed, I. D., Almabrok, A. A., Barka, A. B. A., Bilen, S., & Elbeshti, R. T. (2018). Effect of celery (*Apium graveolens*) extract on the

growth, haematology, immune response and digestive enzyme activity of common carp (*Cyprinus carpio*). Marine Science and Technology Bulletin, 7(2), 51-59.

Muthulakshmi, M., Subramani, P. A., & Michael, R. D. (2016). Immunostimulatory effect of the aqueous leaf extract of *Phyllanthus niruri* on the specific and nonspecific immune responses of *Oreochromis mossambicus* Peters. Iranian journal of veterinary research, 17(3), 200.

Naylor RL, Goldburg RJ, Primavera JH, Kautsky N, Beveridge MCM, Clay J, Folke C, Lubchenco J, Mooney H, Troell M (2000) Effect of aquaculture on world fish supplies. Nature 405:1017–1024

Nhu, T. Q., Hang, B. T. B., Hue, B. T. B., Quetin-Leclercq, J., Scippo, M. L., Phuong, N. T., & Kestemont, P. (2019). Plant extract-based diets differently modulate immune responses and resistance to bacterial infection in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). Fish and shellfish immunology, 92, 913-924.

Olsen, R. L., & Hasan, M. R. (2012). A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. Trends in Food Science and Technology, 27(2), 120-128.

Pennell, W., & Barton, B. A. (Eds.). (1996). Principles of salmonid culture. Elsevier.

Pourmoghim, H., Haghighi, M., & Rohani, M. S. (2015). Effect of dietary inclusion of *Origanum vulgare* extract on nonspecific immune responses and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, 4(3), 33-39.

Quade, M. J., & Roth, J. A. (1997). A rapid, direct assay to measure degranulation of bovine neutrophil primary granules. Veterinary immunology and immunopathology, 58(3-4), 239-248.

Quesada SP, Paschoal JAR, Reyes FGR (2013) Considerations on the aquaculture development and on the use of veterinary drugs: special issue for fluoroquinolones—a review. J Food Sci 78:1321–1333

Ricker, W.E., 1979. Growth rates and models. In: Hoar, W.S., Randall,R.J., Brett, J.R. (Eds.), Fish Physiology, vol. 8. Academic Press,New York, pp. 677–743.

Rico, A., Phu, T. M., Satapornvanit, K., Min, J., Shahabuddin, A. M., Henriksson, P. J., & Van den Brink, P. J. (2013). Use of veterinary medicines, feed additives and probiotics in four major internationally traded aquaculture species farmed in Asia. Aquaculture, 412, 231-243.

Salem, M. O. A., Salem, T. A., Özdemir, K. Y., Sönmez, A. Y., Bilen, S., & Güney, K. (2021). Antioxidant enzyme activities and immune responses in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) juveniles fed diets supplemented with dandelion (*Taraxacum officinalis*) and lichen (*Usnea barbata*) extracts. Fish Physiology and Biochemistry, 1-10.

Segal, A. W. (2005). How neutrophils kill microbes. Annu. Rev. Immunol., 23, 197-223.

Siwicki, A. K., & Anderson, D. P. (1993). Immunostimulation in fish: measuring the effects of stimulants by serological and immunological methods. US Fish Wildl Service-IFI, 1, 1-17.

Sugita, H., Kawasaki, J., & Deguchi, Y. (1997). Production of amylase by the intestinal microflora in cultured freshwater fish. Letters in Applied Microbiology, 24(2), 105-108.

Sun, Z., Tan, X., Ye, H., Zou, C., Ye, C., & Wang, A. (2018). Effects of dietary *Panax notoginseng* extract on growth performance, fish composition, immune responses, intestinal histology and immune related genes expression of hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus*♂× *Epinephelus fuscoguttatus*♀) fed high lipid diets. Fish and shellfish immunology, 73, 234-244.

Tan, X., Sun, Z., Chen, S., Chen, S., Huang, Z., Zhou, C., & Wang, A. (2017). Effects of dietary dandelion extracts on growth performance, body composition, plasma biochemical parameters, immune responses and disease resistance of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*. Fish and Shellfish Immunology, 66, 198-206.

Tan, X., Sun, Z., Huang, Z., Zhou, C., Lin, H., Tan, L.,& Huang, Q. (2017). Effects of dietary hawthorn extract on growth performance, immune responses, growth- and immune-related genes expression of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*) and its susceptibility to *Vibrio harveyi* infection. Fish and shellfish immunology, 70, 656-664.

Terzi, E., Kucukkosker, B., Bilen, S., Kenanoglu, O. N., Corum, O., Özbek, M., & Parug, S. S. (2021). A novel herbal immunostimulant for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Yersinia ruckeri*. Fish and Shellfish Immunology, 110, 55-66.

Terzi, E., Kucukkosker, B., Bilen, S., Kenanoglu, O. N., Corum, O., Özbek, M., & Parug, S. S. (2021). A novel herbal immunostimulant for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Yersinia ruckeri*. Fish and Shellfish Immunology, 110, 55-66.

Wong, H., & Schotz, M. C. (2002). The lipase gene family. Journal of lipid research, 43(7), 993-999.

Worthington, C. C. (1991). Worthington enzyme manual related Biochemical. Freehold, New Jersey, USA.

Worthington, V. (1993). Worthington Enzyme Manual. Enzymes and Related Biochemicals Worthington Chemical, New Jersey, US. 399 pp.

Yanık T., 2009. Gökkuşağı Alabalığı ve Alabalıkgillerin Morfolojik Özellikleri Arazi Çalışmaları. Doğal Alabalık Çalıştayı: Sürdürülebilir Yetiştiricilik, Koruma ve Balıklandırma, 22-23 Ekim 2009, Trabzon.

Zhang, B., Li, C., Wang, X., Zhou, H., Mai, K., & He, G. (2019). The effects of dietary *Eucommia ulmoides* Oliver on growth, feed utilization, antioxidant activity and immune responses of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Aquaculture Nutrition, 25(2), 367-376.

Zhou, C., Lin, H., Ge, X., Niu, J., Wang, J., Wang, Y. & Tan, X. (2015). The effects of dietary soybean isoflavones on growth, innate immune responses, hepatic antioxidant abilities and disease resistance of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*. Fish and shellfish immunology, 43(1), 158-166.